

GLUKAGON UND SÄTTIGUNG

Ulrike Zieger

1482



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554013_0100

Aus dem Institut für
Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie
der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Geschäftsführender Vorstand: Prof. Dr. H. Zucker

Angefertigt unter der Leitung von
Prof. Dr. E. Scharrer

G L U K A G O N U N D S Ä T T I G U N G

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig - Maximilians - Universität München

von
ULRIKE ZIEGER
aus
Arnsberg

München 1982

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. G. Terplan

1. Referent: Prof. Dr. E. Scharrer

2. Referent: Prof. Dr. W. Kraft

1. Korreferent: Prof. Dr. W. Leidl

2. Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. F. Graf

3. Korreferent: Priv. Doz. Dr. Dr. habil. H. Nohl



Tag der Promotion: 30. Juli 1982

Meinen Eltern

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

	Seite
EINLEITUNG	1
LITERATUR	3
MATERIAL UND METHODEN	
Tiermaterial und Haltungsbedingungen	10
Futterraufnahme	10
Injektionen	13
Blutentnahme	15
Blutglukose	15
Leberglykogen	16
Muskelglykogen	16
Glukagon	17
Insulin	18
3'5'AMP	19
Statistik	20
VERSUCHE UND ERGEBNISSE	
Experiment I	
Einleitung	21
Versuchsplan	25
Ergebnisse	25
Besprechung der Ergebnisse	30
Experiment II	
Einleitung	32
Versuchsplan	33
Ergebnisse	33
Besprechung der Ergebnisse	36

Experiment III	
Einleitung	39
Versuchsplan zu Experiment III A	40
Ergebnisse des Experiments III A	40
Versuchsplan zu Experiment III B	42
Ergebnisse des Experiments III B	42
Besprechung der Ergebnisse	46
DISKUSSION	48
ZUSAMMENFASSUNG	57
SUMMARY	59
SCHRIFTTUM	61

E I N L E I T U N G

Die der Regulation des Körpergewichts zugrundeliegenden Mechanismen sind im einzelnen nicht bekannt. Diese Mechanismen sorgen für ein ausgeglichenes Verhältnis zwischen Nahrungsaufnahme, energieverbrauchenden Körperfunktionen und Energiespeichern des Körpers und gewährleisten so die Konstanz des Körpergewichts auch bei veränderten Umweltbedingungen. Möglichkeiten der Regulation liegen in der Mobilisation körpereigener, jedoch begrenzter Reserven, in viel entscheidenderem Maße aber in der Modulation der Energie- (= Nahrungs-) aufnahme. Diese erfolgt in der Regel in Form von Mahlzeiten, deren Beginn u. a. durch die Empfindung "Hunger" ausgelöst wird und an deren Ende "Sättigung" empfunden wird. Somit haben diese beiden subjektiven Erscheinungen Schlüsselpositionen im Regelkreis der Verzehrskontrolle inne. Ihre auslösenden Faktoren allerdings sind unbekannt.

Auf der Suche nach diesen Faktoren und den Gesetzmäßigkeiten, denen die Verzehrskontrolle unterliegt, wurden diverse Theorien aufgestellt. Die einen beschäftigen sich mit der Regulation des Körpergewichts als dem entscheidenden Parameter einer langfristig angelegten Kontrolle der Nahrungsaufnahme auf der Basis körpereigener Fettdepots. Die anderen haben kurzfristig agierende Mechanismen zum Inhalt, die unmittelbar am Zustandekommen von Hunger und Sättigung als den Determinanten einer Mahlzeit beteiligt sind. Veränderungen in den Konzentrationen bzw. der Utilisation von Plasmametaboliten sowie Reizung von gastrointestinalen Chemo- oder Osmorezeptoren wurden damit in Zusammenhang gebracht. Gemeinsam ist diesen Theorien die Vorstellung, daß durch die Nahrungsaufnahme ausgelöste metabolische, hormonelle oder neural

Übertragene Signale direkt von im Zentralnervensystem gelegenen Kontrollzentren registriert werden.

In letzter Zeit mehren sich jedoch die Hinweise auf eine Beteiligung, d. h. Zwischenschaltung peripherer Stoffwechselmechanismen zumindest im Rahmen der kurzfristigen Verzehrsregulation. Besondere Bedeutung könnte dabei dem Kohlenhydratstoffwechsel der Leber und den ihn beeinflussenden Hormonen Glukagon und Insulin zukommen.

Die Funktion des Glukagons als hypothetisches "Sättigungssignal" und seinen Zusammenhang mit dem Kohlenhydratstoffwechsel der Leber näher zu untersuchen, war das Ziel der vorliegenden Arbeit.

L I T E R A T U R

Glukose als bevorzugtes energielieferndes Substrat vieler Zellen wurde schon früh mit der Verzehrskontrolle in Zusammenhang gebracht. Bereits 1916 nahm Carlson (12) an, daß für den Blutglukosegehalt ein kritischer Schwellenwert existiert, dessen Unterschreitung Hunger auslöst. Jean Mayer (54,55,56) postulierte in seiner glukostatischen Theorie 1953 erstmals, daß nicht die Höhe des Blutglukosespiegels, sondern die Höhe der Glukose-utilisationsrate von glukosesensitiven Zellen im Hypothalamus der entscheidende Parameter bei der Verzehrskontrolle ist. Demnach löst eine hohe Utilisationsrate dieser Zellen Sättigung, eine niedrige Utilisationsrate dagegen Hunger aus. Dies setzt voraus, daß die Kohlenhydratreserven des Körpers sehr kurzfristigen Schwankungen unterliegen und daß die Glukoseutilisation bereits während der Nahrungsaufnahme deutlich ansteigt. Dafür konnten später von Strubbe und Steffens (94) Hinweise erbracht werden, die einen deutlichen Anstieg des Blutglukosespiegels während der Mahlzeit fanden.

Zahlreiche in der Folgezeit erhaltene Resultate lassen zumindest an einer partiellen Richtigkeit Mayers glukostatischer Theorie wenig Zweifel aufkommen. Die Reaktionen des Hypothalamus auf Glukosezufuhren unterschiedlicher Art lassen tatsächlich auf einen glukosesensitiven Mechanismus in diesem Hirnareal schließen. So steigt die Aktionspotentialfrequenz im ventromedialen Hypothalamus (VMH) sowohl nach peripherer Glukoseinfusion (3), als auch nach lokal in den VMH applizierter Glukoselösung (63). Bei gleicher Infusion in den ventrolateralen Hypothalamus (VLH) fällt dagegen die Frequenz der Aktionspotentiale (63). 2-Desoxyglukose, die den Transport von Glukose

in die Zelle und ihre Verstoffwechslung kompetitiv hemmt und so eine verminderte Glukoseutilisation bedingt, steigert zudem die Futteraufnahme (8,37,61). Steffens (89) fand ebenfalls eine gesteigerte Futteraufnahme nach indirekter Hemmung der Glukoseutilisation des VMH, nämlich nach Applikation von Insulinantikörpern in den VMH, dessen Zellen Glukose nur in Abhängigkeit von Insulin aufnehmen können.

Daß die genannten Kerngebiete des Hypothalamus bei der Verzehrsregulation eine wichtige Rolle spielen, ist auch aus experimentellen Befunden ersichtlich, die nach gezielter Zerstörung des VMH oder des VLH erhalten wurden. So führt die Läsion des VMH zu einer Hyperphagie, die Läsion des VLH zu einer Hypophagie, was darauf hindeutet, daß im VMH der "Sitz des Sättigungszentrums" und im VLH der des "Hungerzentrums" zu suchen ist (6,32,86,87).

Ob die im Hypothalamus vorhandenen sog. Glukorezeptoren maßgeblich an der Regulation des Verzehrs beteiligt sind, muß allerdings in Frage gestellt werden. Allgemein wird dem Hypothalamus heute eine übergeordnete Funktion im Sinne einer Sollwerteinstellung des Körpergewichts zugeschrieben. So sollen Läsionen im Bereich des VMH eine Erhöhung des Sollwertes bedingen, denn Tiere mit entsprechenden Läsionen befinden sich nur so lange in einer hyperphagen Phase, bis dieser neue Sollwert erreicht ist (33,41). Auch sind bei diesen Tieren durchaus kurzfristige Sättigungsmechanismen wirksam, wie die Verzehrsdepression nach intraperitonealer Glukoseinjektion (69,74) oder nach kohlenhydratreicher gastral Infusion (83) zeigt.

Die Frage stellt sich von selbst, inwieweit in der Peripherie liegende Mechanismen für die Regulation der Nahrungsaufnahme von Bedeutung sind. Interessant ist, daß intraportale (10,11,76,101), intraperitoneale (68,105)

und intragastrale (7,11,100,104) Glukoseapplikationen die Nahrungsaufnahme reduzieren, während Glukoseinfusionen in die Vena jugularis (11,76,90), in die Aorta (81) oder in das Herz (94) effektiv sind. Zwar gibt es auch Arbeiten, nach denen intraportale Glukoseinfusionen die Futteraufnahme nicht beeinflussen (70,90,94), insgesamt aber deuten die Daten auf die Existenz glukosesensitiver Rezeptoren im Splanchnikusgebiet hin.

Postuliert wurde eine Beteiligung hepatischer Glukorezeptoren an der Verzehrsregulation erstmals von Russek (73, 75,76). Er führte den anorexen Effekt intraperitonealer Adrenalininjektionen auf den Glukosekonzentrationsanstieg in den Leberzellen zurück. Er vermutete, daß das zentrale Nervensystem über vagale Afferenzen über den jeweiligen Glukosestatus der Leber informiert wird. Unterstützt wird diese Theorie durch Befunde von Nijima (59,60). Dieser Autor fand eine inverse Korrelation zwischen der Aktionspotentialfrequenz von hepatischen afferenten Vagusfasern und der Konzentration von Glukose in der Pfortader. Die Integration des Vagus in das für die Verzehrsregulation zuständige Kontrollsystem als Informationsträger zwischen Leber und ZNS ist auch nach Arbeiten von Novin et al. (62) wahrscheinlich. Nach bilateraler, subdiaphragmatischer Vagotomie entfällt nämlich der verzehrsreduzierende Effekt intraportaler Glukoseinfusionen. Auf weitergehenden elektrophysiologischen Beobachtungen basiert Russeks "Potentiostatische Theorie" (78). Nach dieser Theorie ist das Membranpotential innervierter Leberzellen (= Glukorezeptoren) der entscheidende Parameter der Verzehrsregulation. Dabei soll das Membranpotential vom Glukoseefflux und damit von vorhandenen Glykogenreserven abhängig sein.

Weitere Hinweise auf eine Beteiligung des Kohlenhydratstoffwechsels der Leber am Sättigungsmechanismus liegen seit neuerer Zeit vor. Nach Langhans et al. (43,44) nimmt der Glykogengehalt der Leber im Verlauf einer kohlenhydratreichen Mahlzeit deutlich ab, um danach wieder auf ursprüngliche Werte anzusteigen. Dabei ist das Ausmaß der Glykogenolyse vom absoluten Glykogengehalt unabhängig (43). Die Verzehrsdepression nach Glukagoninjektion (25,43) als auch nach Adrenalininjektion (77) ist mit deutlicher Glykogenolyse korreliert. Le Magnen (47), der eine Abhängigkeit des Glykogengehalts der Leber vom Tag-Nacht-Rhythmus fand, bestreitet zwar die Verantwortlichkeit des Leberglykogens für das Verzehrsmuster, doch ließ er mahlzeitbezogene Schwankungen außer Betracht. Ein kausaler Zusammenhang zwischen der Glykogenolyse während der Mahlzeit und dem Ende der Mahlzeit, also der Sättigung, erscheint demnach möglich. Unter welchem Einfluß stehen nun der Kohlenhydratstoffwechsel der Leber bzw. die während der Mahlzeit erfolgende hepatische Glukosefreisetzung? Hier bietet das Glukagon interessante Aspekte.

Glukagon ist ein aus 29 Aminosäuren bestehendes Proteohormon, das in den Alpha-Zellen des endokrinen Pankreas produziert wird. Wirksam wird es in der Leber nach Bindung an spezifische Rezeptoren der Leberzellmembran, indem ein ebenfalls an diese Rezeptoren gebundenes sog. "Nukleotid-regulierendes-Protein" durch Anlagerung von Guanosintriphosphat aktiviert wird und nun seinerseits die Adenyl-Zyklase aktiviert (72). Die Adenyl-Zyklase erhöht die intrazelluläre Konzentration von zyklischem Adenosinmonophosphat ($3'5'$ AMP), das über mehrere Einzelschritte Enzyme der Glykogenolyse und Glukoneogenese stimuliert (72). Die Spezifität dieses auch von anderen Hormonen benutzten sog. "second-messenger-Mechanismus" soll in den

jeweiligen Rezeptoren verankert sein (72). Mittels seiner glykogenolytischen und glukoneogenetischen Aktivität erhöht Glukagon den Blutglukosespiegel und soll vor allem in energiezehrenden Streßsituationen die Glukosehomöostase gewährleisten (13,24,84,98). Der Glukagongehalt des Blutes steigt beim Abfall der Blutglukose (13) und fällt entsprechend beim Blutglukoseanstieg (13).

Daß Glukagon in antagonistischem Zusammenspiel mit Insulin, welches in den pankreatischen Beta-Zellen gebildet wird, nicht nur die Glukosehomöostase reguliert, sondern auch eine Rolle in der Verzehrsregulation im Sinne eines Sättigungshormons spielen könnte, wird neuerdings diskutiert (25,43,52). Eine als Sättigungssignal fungierende endogene Substanz muß bestimmte Kriterien erfüllen (28). Glukagon erfüllt einen Teil dieser Kriterien:

1. Um das Ende einer Mahlzeit, also Sättigung zu induzieren, muß die Plasmakonzentration der betreffenden Substanz im Verlauf der Mahlzeit ansteigen und bis zur nächsten Mahlzeit wieder abfallen. Ein Anstieg des Plasmaglukagongehalts während der Nahrungsaufnahme erfolgt bei Mensch (79) und Ratte (19,58). Bei Ratten (19) fällt der Glukagonspiegel etwa 10 Minuten nach Beendigung der Mahlzeit wieder ab.

2. Wenn eine endogene Substanz Sättigung induziert, müßte durch exogene Zufuhr dieser Substanz derselbe sättigende Effekt erzielt werden. Glukagoninjektionen führen beim Kaninchen (102), bei der Ratte (16,52), beim Schaf (18) und beim Menschen (67) zu Verzehrsreduktion und Abnahme des Körpergewichts. Bei der Ratte sind Mahlzeiten, zu deren Beginn intraperitoneal Glukagon appliziert wird, deutlich verkürzt und verkleinert, die Sättigung wird also früher erreicht (25,43).

3. Der verzehrsreduzierende Effekt dieser Substanz darf nicht auf Toxizität beruhen. Glukagoninjektionen bei der Ratte lassen weder toxische Wirkungen erkennen, noch lassen sich durch Glukagoninjektionen Aversionen erzeugen (27). Entsprechende Injektionen beim Menschen zur Gewichtsreduktion gehen nicht mit Unwohlsein oder Krankheit einher (67).

Als Informationsübermittler des eventuell "Sättigung signalisierenden" Glukagons an das zentrale Nervensystem, in dem wahrscheinlich ein übergeordneter Kontrollmechanismus lokalisiert ist, kommt der Nervus vagus in Betracht. Vagotomie verhindert nämlich bei der Ratte den verzehrsreduzierenden Effekt intraportaler Glukagoninfusionen (53, 102). Jedoch erscheint auch eine direkte Beeinflussung des Hypothalamus durch Glukagon möglich, da im Hypothalamus ebenfalls Glukagonrezeptoren vermutet werden (40).

Worauf die verzehrsreduzierende Wirkung von Glukagon beruht, ist bislang unklar. Als Ursache wird die durch Glukagon stimulierte hepatische Glukoseproduktion bzw. die dadurch entstehende Hyperglykämie angesehen (25,52, 102). Eine Reihe von Befunden spricht für diese Annahme. Glukagon reduziert den Verzehr bereits in Dosierungen, die keine Beeinflussung des Lipidstoffwechsels erkennen lassen (25,43). Die Verzehrsdepression nach Glukagoninjektion ist demgegenüber, wie bereits erwähnt, mit einer deutlichen Glykogenolyse korreliert (25,43), wobei die Blutglukosekonzentrationen und der Leberglykogengehalt am Ende einer physiologischen und einer durch Glukagoninjektion verkürzten Mahlzeit weitgehend übereinstimmen (25,43). Schließlich haben Glukagoninjektionen keinen verzehrsreduzierenden Effekt bei Ratten mit extrem niedrigen Leberglykogengehalten (52).

Neben diesen zahlreichen positiven Hinweisen auf eine Beteiligung des Glukagons bzw. der Glykogenolyse an der Verzehrsregulation liegen Arbeiten vor, die sich mit dieser These nicht vereinbaren lassen. So läßt sich nicht erklären, warum Glukagoninjektionen trotz Erzeugung einer deutlichen Hyperglykämie keinen Effekt auf die Futteraufnahme von Ratten mit Magenfisteln haben (26), bei Tieren mit ungestörter Magen-Darm-Passage aber deutlich den Verzehr reduzieren. Ebenso bleibt die Frage offen, warum selbst hochdosierte Glukagoninjektionen, werden sie mehrere Minuten vor einer Mahlzeit appliziert, diese Mahlzeit trotz starker Hyperglykämie nicht beeinflussen (27,103).

Die Beteiligung des Glukagons an der Verzehrsregulation, eventuell im Sinne eines "Sättigungshormons", bleibt also vorerst Hypothese. Den Zusammenhang zwischen Glukagon, Glukosefreisetzung aus der Leber und Sättigung weiter abzuklären, ist das Ziel der vorliegenden Arbeit.

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

TIERMATERIAL UND HALTUNGSBEDINGUNGEN

Alle Versuche wurden mit männlichen Sprague-Dawley-Ratten (Institut für wissenschaftliche Versuchstierzucht GmbH, Gelting bei München) durchgeführt. Die Aufstallung erfolgte einzeln in Drahtkäfigen. Ein automatisches Lichtprogramm sorgte für einen Tag-Nacht-Zyklus von je 12 Stunden mit Beginn der Dunkelphase um 10⁰⁰ Uhr. Die Raumtemperatur betrug $24 \pm 1^{\circ} \text{C}$.

Gefüttert wurde eine pulverförmige kohlenhydratreiche Diät mit etwa 16 kJ umsetzbarer Energie pro Gramm. Ihre genaue Zusammensetzung ist in den Tabellen 1 - 3 angegeben. Futter wurde ständig angeboten mit Ausnahme der in den entsprechenden Experimenten angegebenen Zeiten. Wasser stand stets zur Verfügung.

Die Tiere wurden über mindestens 14 Tage an die Haltungsbedingungen gewöhnt. Um Streß-Situationen während der Experimente zu vermeiden und eventuell dadurch bedingten Verfälschungen der Ergebnisse vorzubeugen, wurden während dieser Eingewöhnungsphase notwendige Manipulationen wie Wiegen der Tiere und Pseudo-Injektionen trainiert. Alle Experimente wurden während der Dunkelphase durchgeführt.

FUTTERAUFNAHME

Die Mahlzeit als meßbare Größe wird durch zwei Parameter bestimmt, nämlich die Zeitdauer sowie die in dieser Zeit aufgenommene Futtermenge.

Die Futtermenge wurde unter Berücksichtigung des verstreuten und mittels untergelegten Papiers aufgefangenen Futters durch Wiegen der Futternäpfe auf 0,1 g genau bestimmt. In Experiment 1 wurde auf die Messung der

Tabelle 1 : Zusammensetzung der Diät

Kasein ¹⁾	13,0 %
Maisstärke	76,7 %
Sojaöl	3,3 %
Mineralsalzmischung (s. Tabelle 2)	5,0 %
Vitaminmischung (s. Tabelle 3)	2,0 %
	100,0 %

Tabelle 2 : Zusammensetzung der in Tabelle 1 erwähnten Mineralsalzmischung

CaCO_3	12,50 g
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	11,70 g
K_2HPO_4	8,35 g
NaCl	6,25 g
Na_2HPO_4	5,80 g
$\text{MgSO}_4 \times 7 \text{ H}_2\text{O}$	4,16 g
Fe-Citrat	0,37 g
$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	0,38 g
ZnCO_3	0,066 g
$\text{CuSO}_4 \times 5 \text{ H}_2\text{O}$	0,016 g
KJ	0,033 g
NaF	0,008 g
	50,00 g

¹⁾ Säurekasein (Meggler, Reitmeiring), mit 1 % DL-Methionin ergänzt

Tabelle 3 : Zusammensetzung der in Tabelle 1
erwähnten Vitaminmischung

Vitamin A	5000	IE
D ₃	1000	IE
E	100	mg
K ₃	2	mg
C	20	mg
B ₁ x HCl	20	mg
B ₂	20	mg
B ₆ x HCl	10	mg
B ₁₂	30	µg
Biotin	200	µg
Folsäure	2	mg
Nikotinsäure	50	mg
Ca-Panthotenat	50	mg
Cholinchlorid	2	g
Inosit	250	mg
p-Aminobenzoesäure	100	mg
Maisstärke ad	20	g

Futteraufnahme verzichtet, um die Tiere nicht unnötig zu stören. Zur Ermittlung der Mahlzeitdauer wurden die Tiere jeweils während des gesamten Versuchsablaufs beobachtet. Der Beginn einer Mahlzeit war der Zeitpunkt, an dem die Tiere den ersten Bissen aufnahmen. Eine Mahlzeit galt als beendet, wenn die Tiere die Nahrungsaufnahme stoppten und das von Antin et al. (5) beschriebene, für Sättigung typische Verhaltensmuster zeigten: Körperpflege, Exploration und schließlich Ruhe oder Schlaf. Zeigten die Tiere das genannte Verhalten nicht, oder unterbrachen sie ihre Mahlzeit für mehr als 6 Minuten, um sie danach wieder fortzusetzen, wurden sie vom Versuch ausgeschlossen.

INJEKTIONEN

Alle Injektionen wurden jeweils zu Beginn der interessierenden Mahlzeit intraperitoneal verabreicht. Aufgrund der geringen Schmerzempfindlichkeit wurde als Einstichstelle die Linea alba gewählt. Die Injektionen erfolgten etwa fingerbreit hinter dem Sternum. Zur Verwendung kamen möglichst kleinlumige Kanülen (L 18).

In Experiment II erhielten die Tiere Glukagoninjektionen (Serva Feinbiochemica, Heidelberg) in einer Dosis von $120 \mu\text{g}$ pro Tier in 1,0 ml Lösungsmittel bzw. als Kontrollinjektion 1,0 ml Lösungsmittel in folgender Zusammensetzung:

	Versuchslösung	Kontrollösung
Glukagon	1,20 mg	—
DMSO	0,36 ml	0,36 ml
5,4 % NaCl-Lösung	0,07 ml	0,07 ml
0,9 % NaCl-Lösung	ad 10,00 ml	ad 10,00 ml

Das Dimethylsulfoxid (DMSO) mußte zugefügt werden, um Glukagon in Lösung zu bringen. Die Lösung war blutisoton.

In Experiment III B wurden gegen Glukagon gerichtete Antikörper (Radioassay Systems Laboratories (RSL), Inc., Carson, California), gelöst in 1,0 ml Lösungsmittel, bzw. als Kontrolle 1,0 ml Lösungsmittel allein verabreicht, das folgende Zusammensetzung aufwies:

Kontrollösung

Kaninchenserum	0,0025 ml
Trasylol	0,00625 ml (=125 IU)
Krebs-Henseleit-Puffer	ad 1,00 ml

Trasylol (Bayer, Leverkusen, 20000 IU/ml) als Proteasehemmer unterdrückte die proteolytische Aktivität der im Serum vorhandenen Proteasen.

Die Neutralisationskapazität der pro Tier verwendeten Antikörperdosis betrug etwa 5 ng Glukagon. Kreuzreaktionen der Antikörper mit anderen Hormonen wurden wie folgt angegeben:

Hormon	% Kreuz-Reaktion
Pankreatisches Glukagon	100,0
Darm-Glukagon	0,0014
Schweineinsulin	0,0005
Schweinegastrin 1 und 2	0,0003
Menschl. synthet. Gastrin 1	0,0003
T 3	0,0003
T 4	0,0003

BLUTENTNAHME

In den Experimenten I, II und III B wurden die Tiere zu den jeweils dort angegebenen Zeitpunkten zur Blutentnahme in einen Nebenraum verbracht und mit Äther narkotisiert. Nach Laparotomie wurde mittels heparinisierter 1 ml-Spritzen mit aufgesetzten L 18-Kanülen aus der Vena hepatica etwa 0,5 ml Blut, aus der Vena portae 1,0 ml Blut sowie in Experiment I zusätzlich aus der Aorta abdominalis 1,0 ml Blut entnommen und sofort in im Eisbad bereitstehende Zentrifugengläser überführt. Nach Entnahme von je 0,1 ml Blut für die Glukosebestimmung wurden zur Hormonbestimmung den Proben jeweils 10% (Vol./Vol.) Trasyllol-Lösung zugesetzt (Bayer, Leverkusen, 20000 IU/ml). Trasyllol ist, wie bereits erwähnt, ein Proteasehemmer und verhindert den Abbau u. a. der Proteohormone Glukagon und Insulin durch im Plasma vorhandene Proteasen. Nach 15minütiger Zentrifugation bei 4° C und 3000 U/min wurde das Plasma in Plastikgefäßen eingefroren und bis zur Durchführung der Hormonbestimmungen bei -40° C gelagert.

BLUTGLUKOSE

Wie bereits erwähnt, wurden zur Bestimmung der Blutglukose jeder Probe 0,1 ml Vollblut entnommen. Nach sofortiger Enteiweißung mit 1,0 ml Uranylacetat-Lösung (Urac^R, Boehringer) und Zentrifugation (10 min bei 4000 U/min) erfolgte die Glukosebestimmung nach der sog. Glukoseoxidase-Peroxidase-Methode (Test Combination Glucose, GOD-Perid^R-Methode, Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim).

Das Testprinzip beruht auf einer Oxidation der Glukose durch die Glukoseoxidase (GOD), wobei Glukonsäure und Wasserstoffperoxid entstehen. Aus diesem Wasserstoffperoxid wird mittels einer Peroxidase (POD) Sauerstoff

freigesetzt, der einen reduzierten Farbstoff (Perid) oxidiert. Die dadurch zunehmende Farbindensität wird in einem Photometer gemessen und ist der vorhandenen Glukosekonzentration proportional.

LEBERGLYKOGEN

Zum Zweck der Glykogenbestimmung wurde den Tieren nach der oben erwähnten Blutentnahme der linke Leberlappen entnommen, sofort mittels flüssigen Stickstoffs tiefgefroren, in Polyäthylenfolie verschweißt und bis zur Aufarbeitung bei -20°C gelagert.

Das Prinzip der Glykogenbestimmung beruht auf der hydrolytischen Spaltung der Glukosidbindungen des Glykogens und der Messung der so entstehenden Glukosemoleküle mit Hilfe der oben beschriebenen Glukoseoxidase-Peroxidase-Methode unter Berücksichtigung des bei der Hydrolyse aufgenommenen Wassers (1 Mol Wasser/1 Mol Glukose). Die genaue Arbeitsanweisung wurde an anderer Stelle beschrieben (43).

Alle Angaben erfolgen in % des Leberfrischgewichts.

MUSKELGLYKOGEN

In Experiment 1 wurde zusätzlich das Muskelglykogen bestimmt. Dazu wurde ein ca. 2 cm^2 großes Stück der Abdominalmuskulatur entnommen und in flüssigem Stickstoff tiefgefroren. Die Bestimmung des Muskelglykogens erfolgte analog der des Leberglykogens mit Ausnahme der wegen des geringeren Glykogengehalts nötigen höheren Einwaage (etwa 1,5 g Muskelgewebe).

GLUKAGON

Die Glukagonbestimmung erfolgte in dem, wie im Kapitel "Blutentnahme" beschrieben, vorbehandelten Plasma radioimmunologisch. Verwendet wurde ein Radioimmuntest der Firma Radioassay Systems Laboratories, Inc., Carson, California.

Das Prinzip dieses Tests besteht darin, daß in den Proben vorhandenes Glukagon und zugesetztes radioaktiv markiertes Glukagon (^{125}J) um eine limitierte Menge eines spezifisch gegen Glukagon als Antigen gerichteten Antikörpers konkurrieren und sich im Verhältnis ihrer Quantitäten nach Erreichung des Reaktionsgleichgewichts an diesen Antikörper gebunden haben. Zur Trennung des freien vom gebundenen Glukagon werden in einem zweiten Schritt alle Antigen-Antikörperkomplexe mit Hilfe eines zweiten Antikörpers ausgefällt. Dieser ist spezifisch gegen Immunglobuline gerichtet. Die nun so entstandenen Antigen-Antikörperkomplexe werden abzentrifugiert. Nach Dekantieren des Überstands und somit des freien Glukagons wird die Aktivität des Präzipitats in einem Gamma-Zähler gemessen. Je höher die Menge an Plasmaglukagon, desto weniger radioaktiv markiertes Glukagon erscheint im Präzipitat. Somit ist die gemessene Zählrate der gesuchten endogenen Glukagonkonzentration umgekehrt proportional. Anhand einer nach gleichem Prinzip mit Standards bekannter Glukagonkonzentrationen erstellten Eichkurve lassen sich die gesuchten Glukagonwerte graphisch ermitteln.

In Experiment III wurde den Ratten zur Neutralisation des endogenen Glukagons der gleiche Antikörper injiziert, der im oben beschriebenen Radioimmuntest verwendet wird. Um bei diesen Tieren das verbleibende freie Glukagon bestimmen zu können, mußte das freie vom antikörpergebundenen Glukagon getrennt werden (35): Dazu wurden je 0,2 ml Plasma mit 0,8 ml 96%igem Äthanol versetzt. Nach 15minütiger

Zentrifugation bei 4° C und 4000 U/min wurde der das freie Glukagon enthaltende Überstand dekantiert und für 12 Stunden gefriergetrocknet. Das Lyophilisat wurde in 0,2 ml Krebs-Henseleit-Bicarbonatpuffer aufgenommen. Anschließend wurde der Glukagongehalt dieser Lösung radioimmunologisch mit dem oben beschriebenen Test bestimmt.

Der beschriebene Test wurde zur Bestimmung des Glukagongehalts im Humanplasma entwickelt. Für die Spezifität des verwendeten Antikörpers gelten die im Kapitel "Injektionen" aufgeführten Angaben. Da sich Schweineglukagon (Eichkurve) bzw. Rattenglukagon immunologisch nicht von menschlichem Glukagon unterscheiden (49), kann der Test für die Bestimmung von pankreatischem Glukagon im Rattenplasma verwendet werden.

Auf die Spezifität des Antikörpers hinsichtlich einer erst kürzlich näher definierten Gruppe von intestinalen Glukagon-ähnlichen Substanzen und sich daraus ergebende Probleme wird in Experiment III eingegangen.

INSULIN

Zur Bestimmung des Insulins im Plasma wurde ebenfalls ein Radioimmunttest verwendet (Insulin radioimmunoassay kit, International CIS, St. Quentin, Frankreich).

Das Testprinzip ist ein ähnliches wie das der Glukagonbestimmung: Endogenes Insulin konkurriert mit radioaktiv markiertem Insulin (^{125}J) um eine begrenzte Anzahl spezifisch gegen Insulin gerichteter Antikörper. Die Antikörperbindung erfolgt verhältnismäßig, d. h., je mehr nicht radioaktives Insulin in der Probe vorhanden ist, umso mehr verschiebt sich das Bindungsgleichgewicht zu Gunsten des nicht radioaktiven Insulins der Plasmaprobe. Das freie Insulin wird an Aktivkohle adsorbiert und ausgefällt. Nach Zentrifugation wird die Aktivität des Überstands in einem

Gamma-Zähler gemessen. Auch hier ist die Höhe der Zählrate der Insulinkonzentration des Plasmas umgekehrt proportional. Anhand einer nach dem gleichen Verfahren mit bekannten Insulinkonzentrationen erstellten Eichkurve lassen sich die gesuchten Insulinwerte graphisch ermitteln. Die Spezifität des verwendeten Antikörpers wird wie folgt angegeben:

Verbindung	% Kreuz-Reaktion
Insulin/Mensch	100,0
Insulin/Schwein	100,0
Insulin/Rind	100,0
Insulin/Ratte	90,0
Proinsulin	7,0
Glukagon	0,2
C-Peptide	0,01

Trotz der nicht optimalen Bindung des Ratteninsulins an den Antikörper (90%) können die erhaltenen Ergebnisse als hinreichend genau betrachtet werden, da die 10%ige Fehlerquote alle Proben gleichermaßen betrifft.

3'5'AMP

Der Gehalt an Zyko-Adenosinmonophosphat (3'5'AMP), dem Mittler des Glukagons und anderer Hormone zwischen Bindung an das jeweilige Erfolgsorgan und der Hormonwirkung, wurde in den Experimenten I und III B in der Leber bestimmt. Die Entnahme der Leber erfolgte wie im Abschnitt "Leberglykogen" beschrieben.

Vor der Bestimmung selbst war eine Aufarbeitung der Leber erforderlich, um das intrazelluläre 3'5'AMP in Lösung zu bringen und zu konzentrieren. Dazu wurde ein Stück Leber in flüssigem Stickstoff fein zermörsert und für 12 Stunden gefriergetrocknet. Etwa 80 mg des so erhaltenen Leberpulvers wurden in Zentrifugengläser eingewogen und mittels in Schwefelsäure gelösten Zink-

sulfats enteiweißt (12,5 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ + 125 ml 0,25 n H_2SO_4 ad 1 l H_2O dest.). Nach Zerstörung der Zellen in einem Ultraturaxgerät wurde mit 2,0 ml 0,75 n NaOH neutralisiert und bei 4°C für 30 min bei 15000 U/min zentrifugiert. Der klare Überstand wurde in Kolben dekantiert und mit destilliertem Wasser auf 50,0 ml aufgefüllt. Davon wurden 2,0 ml entnommen und für 12 Stunden gefriergetrocknet. Das Lyophilisat wurde in 0,2 ml Krebs-Henseleit-Bicarbonatpuffer aufgenommen und kam in dieser Form zum Test.

Zur Bestimmung des $3'5'\text{AMP}$ wurde ein Radioimmuntest verwendet (c-AMP (^3H) Radioimmuntest, Amersham Buchheim & Co GmbH, Bielefeld).

Das Testprinzip entspricht dem der im vorhergehenden Kapitel beschriebenen Insulinbestimmung. Da jedoch das radioaktive $3'5'\text{AMP}$ mit Tritium (^3H) markiert war, mußte hier die Radioaktivität in einem Flüssigkeitsszintillationszähler ermittelt werden.

Die Angaben erfolgen in pmol pro Gramm Lebertrockengewicht.

STATISTIK

Die Ergebnisse sind jeweils als Mittelwert mit dem Standardfehler des Mittelwerts angegeben bzw. in den Abbildungen dargestellt.

Die Unterschiede zwischen den Gruppen wurden bei Tierzahlen bis zu 19 pro Gruppe mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Tests auf ihre Signifikanz geprüft (signifikant: $p < 0,05$). Ab 20 Tieren pro Gruppe wurde der t-Test verwendet. Es wurde in allen Fällen die zweiseitige Fragestellung angewendet.

VERSUCHE UND ERGEBNISSE

In diesem Kapitel werden im wesentlichen die Versuchsbedingungen der einzelnen Experimente und die erhaltenen Ergebnisse beschrieben. Eine kurze Besprechung der Ergebnisse schließt sich jeweils an ein Experiment an.

Detaillierte Angaben über Anzahl, Körpergewicht und Gruppeneinteilung der verwendeten Ratten sowie eine Zusammenstellung der jeweils in den Experimenten gemessenen Parameter finden sich in Tabelle 4.

EXPERIMENT I

EINLEITUNG: Nach der Arbeit von Langhans (43) kommt es während der Aufnahme einer Mahlzeit zu einer kurzfristigen Glukosefreisetzung aus der Leber, die auf eine verstärkte Glykogenolyse zurückzuführen ist. Diese Glykogenolyse kommt als Sättigungsfaktor in Betracht. Da die Glykogenolyse jeweils in den periportal en Zellen der Leberläppchen beginnt und dann zum Läppchenzentrum hin fortschreitet (71), scheint für diesen Effekt ein humoraler Faktor verantwortlich zu sein. Als auslösender Faktor für diese Glykogenolyse kommt das pankreatische Glukagon in Betracht. Von mehreren Autoren (25,27,43,52) wird Glukagon auch als potentiell es Sättigungshormon betrachtet, da es Hinweise auf eine verstärkte Glukagonsekretion während einer Mahlzeit gibt und die exogene Zufuhr von Glukagon Sättigung induziert. Daß die sättigende Wirkung von Glukagon auf der induzierten Glykogenolyse beruht, wurde bereits mehrfach vermutet (s. Literaturteil). Wenn unter den Bedingungen, unter denen eine mahlzeitbezogene Glykogenolyse erfolgt, das endogene Glukagon für diese Glykogenolyse und/oder die Sättigung verantwortlich ist, so müßte sich dies in einem Anstieg der Glukagonkonzentration des Blutes während

Tabelle 4 : Versuchsbedingungen und gemessene Parameter

x (-) bedeutet, der Wert wurde (nicht) bestimmt

Expe- riment	Tier- zahl	Körper- gewicht	Allgemeine Versuchsbedingungen	Gruppeneinteilung	Zahlenangaben in () bedeuten die Tierzahlen pro Gruppe													
					Vh: Vena hepatica					Vp: Vena portae								
					Mahlzeit	Glukagon	Insulin	Blutglukose	Glykogen	3'5'AMP								
					Größe	Dauer	Vh	Vp	A	Vp	A	Vh	Leber	Muskel	Leber			
I	123		Futter ad libitum, bei beliebigen spon- tanen Mahlzeiten in der Dunkelphase ge- messen	"Beginn": am Beginn	-	-	(11)	(21)	(11)	(8)	(14)	(14)	(28)	(14)	x	(9)		
				"Mitte": in der Mitte	-	-	(43)	(12)	(39)	(12)	(35)	(7)	(27)	(27)	(43)	(27)	x	(17)
				"Ende": am Ende d. Mahlzeit	-	-	(29)	(12)	(26)	(12)	(24)	(8)	(15)	(15)	(29)	(15)	x	(8)
				"Ende 30": 30 min nach Ende der Mahlzeit getötet	-	-	(23)	(10)	(20)	(10)	(20)	(6)	(12)	(12)	(23)	(12)	x	(8)
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
II	37		zweiförmiger Fut- terentzug, Injektion zu Beginn der ersten Mahlzeit (0,4, 6: Kon- trollinj.), 6: Gluke- goninj.), Tötung zu angegebenen Zeiten	"0": Beginn d. Mahlzeit	(9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
				"M": Mitte	(8)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
				"E": Ende	(10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
				"G": Ende	(10)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
III A	30		Zweiförmiger Fut- terentzug, Injektion zu Beginn der ersten Mahlzeit, Beobachtung des Verzehrverhal- tens	"Kontrolle": Kontrollinj.	(18)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-			
				"Antikörper": Glukagonanti- körperinjektion	(12)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
III B	72		Wie III A, jedoch Tö- tung zu angegebenen Zeiten p.l. (Beginn, Ende: Kontrollinj., Antikörper: Glukagon- antikörperinjektion)	"Beginn": Beginn	(24)	-	-	-	-	-	-	-	-	x	x			
				"Ende": Ende	(28)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	x	
				"Antikörper": Mitte der Mahl- zeit	(20)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	x	x
					-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

der Mahlzeit verdeutlichen. Um dies zu untersuchen, führten wir das erste Experiment unter den gleichen Bedingungen durch, unter denen Langhans (43) die mahlzeitbezogene Glykogenolyse beschrieb. Als Gefäß, das Änderungen in der Sekretionsrate des pankreatischen Glukagons deutlich widerspiegeln dürfte, wählten wir die Vena portae, da die Vena pancreatica, in die pankreatisches Glukagon sezerniert wird, in die Pfortader mündet, selbst aber zur Punktion zu kleinlumig ist. Da für einen leberbezogenen Effekt des Glukagons der Anteil des Hormons entscheidend ist, der in der Leber gebunden wird, und um einen Glukagon-effekt "jenseits" der Leber gegebenenfalls objektivieren zu können, bestimmten wir zusätzlich den Glukagongehalt in der die Leber verlassenden Vena hepatica sowie in der Aorta abdominalis.

Es ist bekannt, daß Glukagon über den sog. "second-messenger Mechanismus" in der Leber seine Wirkung entfaltet, d. h., zu einer Erhöhung des intrazellulären zyklischen Adenosinmonophosphats (3'5'AMP) führt (72). Mit der Einschränkung, daß auch andere Hormone diesen Wirkmechanismus benutzen (72), bestimmten wir als Indiz dafür, daß Glukagon in der Leberzelle wirksam wurde, den 3'5'AMP-Gehalt der Leber.

Als Aktivator der Glykogenolyse fungiert auch das Adrenalin (2). Während Glukagon in Bezug auf die Glykogenolyse leberspezifisch ist (2), wirkt das Adrenalin auf Leber- und Muskelzelle. Wenn Glukagon der Stimulus für die mahlzeitbezogene Glykogenolyse in der Leber ist, so dürfte in der Muskulatur während der Mahlzeit kein Glykogenabbau erfolgen. Um dies zu überprüfen, bestimmten wir den Glykogengehalt in der Muskulatur.

Glukagon besitzt in dem ebenfalls im endokrinen Pankreas

produzierten Hormon Insulin einen Gegenspieler. Insulin stimuliert die Glykolyse und die Glykogenbildung, antagonisiert somit z. T. die Effekte von Glukagon (23). Da Insulin, ähnlich dem Glukagon, während der Aufnahme von Mahlzeiten verstärkt sezerniert wird (48,88,92,93), könnte es die Wirkung des Glukagons auf die Leberzelle aufheben und damit das Glukagon als den die mahlzeitbezogene Glykogenolyse bedingenden Faktor ausscheiden lassen. Daß die beiden Hormone nicht getrennt zu betrachten sind, sondern ihr relatives Verhältnis über metabolische Effekte entscheidet, beschreiben Parilla et al. (65). Sie fanden, daß sich bei Konstanthaltung der Glukagon/Insulin-Relation metabolische Effekte nicht verändern trotz 1000-facher Erhöhung der absoluten Konzentrationen. In die gleiche Richtung weisen Untersuchungen von De Castro et al. (16), die den durch das Hormonverhältnis bedingten metabolischen Status für das jeweilige Verzehrsverhalten verantwortlich machen. Interessante Aspekte liefern Arbeiten von Deetz und Wangsness aus neuerer Zeit (17,18). Sie konnten durch Insulininjektionen in Dosierungen, die keinen Effekt auf den Glukosegehalt des Blutes zeigten, aber den Insulinspiegel erhöhten, die Futteraufnahme von Schafen drosseln. Eine Beteiligung des Insulins an der Verzehrsregulation ist somit nicht auszuschließen. Aus diesem Grund untersuchten wir auch die Veränderungen der Insulinkonzentrationen während der Mahlzeit in der Pfortader und in der Aorta abdominalis.

Um mögliche Korrelationen zwischen den Konzentrationen der genannten Hormone und metabolischen Veränderungen überprüfen zu können, bestimmten wir zudem die Glukosekonzentrationen in der Vena portae und der Vena hepatica sowie den Leberglykogengehalt, obwohl diese Parameter von Langhans (43) in früheren Versuchen bereits bestimmt wurden.

VERSUCHSPLAN: Die Tiere wurden ab 12⁰⁰ Uhr (= 2 Stunden nach Beginn der Dunkelfase) unauffällig beobachtet und ihr Verhalten alle 2 Minuten registriert. Getötet wurden die Tiere entweder am Beginn einer Mahlzeit, in deren Mitte ($8 \pm 0,3$ min), an deren Ende ($16 \pm 0,9$ min) oder 30 Minuten nach Beendigung einer Mahlzeit (46 ± 1 min). Der Beobachtungszeitraum erstreckte sich über ca. 2 Stunden. Um die Tiere möglichst wenig zu stören, verzichteten wir auf die Messung der aufgenommenen Futtermenge. Entnommen wurde je eine Blutprobe aus der Vena hepatica, der Vena portae, bei einem Teil der Tiere auch aus der Aorta abdominalis, sowie eine Leber- und Muskelprobe. Da das Blutvolumen, das aus der Vena hepatica gewonnen werden konnte, sehr gering war, bestimmten wir nur bei der Hälfte der Tiere den Glukagongehalt in diesem Gefäß (parallel bei diesen Tieren auch den Glukagongehalt in der Aorta abdominalis), um bei der anderen Hälfte der Tiere die Glukosekonzentration in der Vena hepatica bestimmen zu können. Nur bei den letztgenannten Tieren wurde parallel die Glukosekonzentration in der Vena portae bestimmt. Der 3'5'AMP-Gehalt der Leber wurde ebenfalls nur bei etwa der Hälfte aller Tiere gemessen.

ERGEBNISSE: Die Blutglukosekonzentrationen in der Vena hepatica (Vh) und der Vena portae (Vp) sowie die zugehörigen Leberglykogenwerte sind in Abbildung 1 dargestellt. Die Glukosewerte in der Vp blieben im Verlauf der Mahlzeit nahezu konstant. Dies ist ein Zeichen dafür, daß der Gastrointestinaltrakt zum Zeitpunkt der Futteraufnahme nicht völlig leer war. Daß die Resorption nach der Mahlzeit anscheinend verstärkt erfolgte, verdeutlicht der Anstieg der Glukosekonzentration in der Vp 30 Minuten nach Beendigung der Mahlzeit ("Ende" gegenüber "Ende + 30 min": $p < 0,05$). In der Vh dagegen erfolgte ein deutlicher Anstieg der Glukosekonzentration vom Beginn der Mahlzeit bis zu

ihrem Ende ("Beginn" gegenüber "Ende": $p < 0,05$), um in den folgenden 30 Minuten wieder abzufallen. Anhand der Differenz der Glukosekonzentrationen zwischen V_h und V_p läßt sich die aktuelle Glukosestoffwechsellage der Leber gut verdeutlichen. Die Differenz von $+3$ mg/100 ml zu Beginn der Mahlzeit stieg über $+12$ mg/100 ml in der Mitte der Mahlzeit auf $+16$ mg/100 ml am Mahlzeitende ("Beginn" gegenüber "Ende": $p < 0,002$) und läßt somit auf eine kurzfristige Glykogenolyse schließen. 30 Minuten nach Beendigung der Mahlzeit war die Differenz mit -2 mg/100 ml bereits negativ ("Ende" gegenüber "Ende + 30 min": $p < 0,002$). Es dürfte zu dieser Zeit also bereits eine Glykogensynthese stattgefunden haben.

Unterstützt werden diese Befunde durch die zugehörigen Leberglykogenwerte. Es erfolgte ein Abfall des Leberglykogens von 3,5% am Beginn der Mahlzeit auf 3,1% in der Mitte und am Ende der Mahlzeit. 30 Minuten nach dem Ende der Mahlzeit war der Ausgangswert mit 3,5% wieder erreicht ("Mitte" gegenüber "Ende + 30 min": $p < 0,05$).

Die Ergebnisse der Glukagonmessung sind in Abbildung 2 dargestellt. In der Vena portae ließ sich im Verlauf einer Mahlzeit ein deutlicher Glukagonanstieg feststellen. Die höchste Konzentration wurde mit 551 pg/ml am Ende der Mahlzeit erreicht. Am Anfang der Mahlzeit lag der betreffende Wert bei 392 pg/ml und 30 Minuten nach dem Ende der Mahlzeit bei 360 pg/ml. In der die Leber verlassenden Vena hepatica zeigten sich diese Schwankungen während der Mahlzeit nicht mehr. Die zunehmende Differenz der Glukagonkonzentrationen zwischen V_p und V_h von 196 pg/ml zu Beginn auf 383 pg/ml am Ende der Mahlzeit spricht für einen Verbleib des vermehrt sezernierten Glukagons in der Leber. Entsprechend den Messungen in der V_h ließen sich auch in der Aorta abdominalis kaum Unterschiede zwischen den verschiedenen

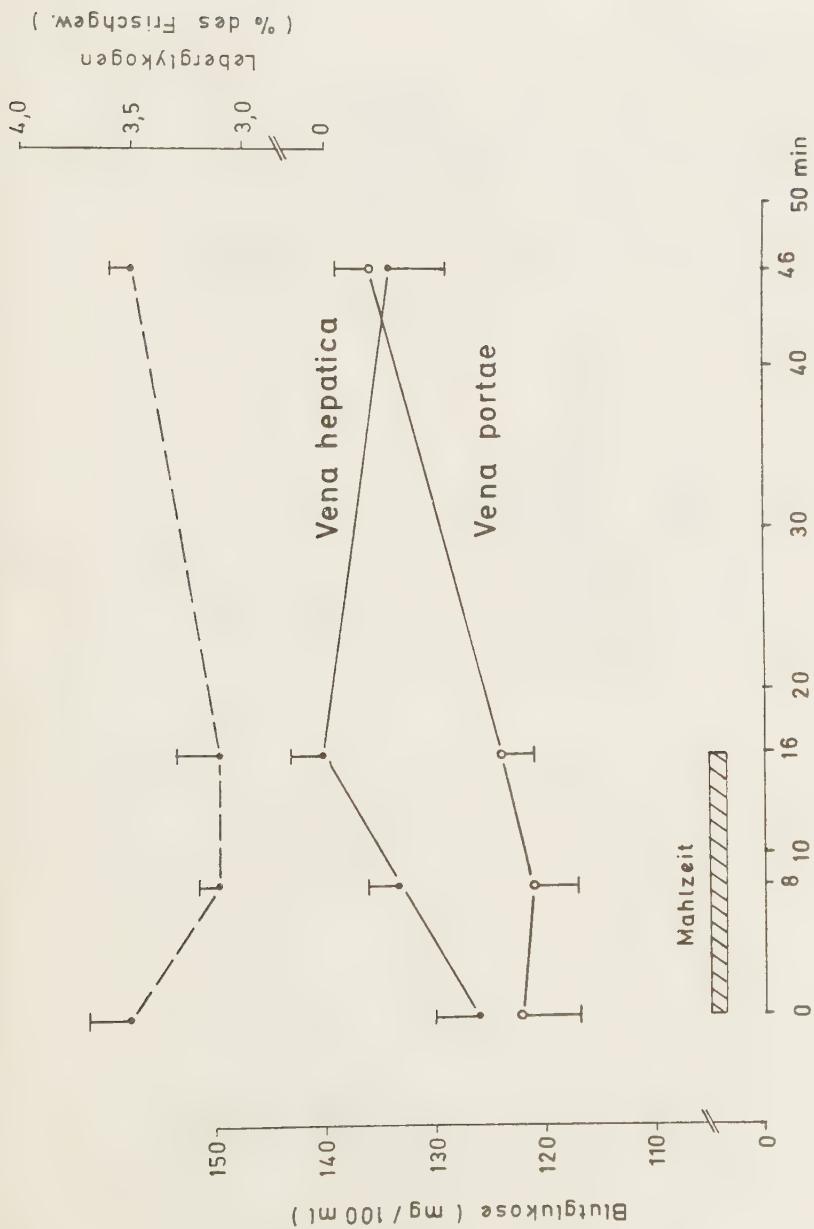


Abbildung 1 : Effekt spontaner Mahlzeiten auf den Blutglukosespiegel in Vena portae (—○—) und Vena hepatica (—●—) sowie auf den Leberglykogengehalt (— — —) bei Ratten

Zeitpunkten erkennen.

Interessant ist die Parallelität zwischen den Glukagonkonzentrationen in der Vp und dem 3'5'AMP-Gehalt der Leber, der ebenfalls in Abbildung 2 dargestellt ist. Der Gehalt dieses "second messenger" in der Leber stieg von 2048 pmol/g bei Mahlzeitbeginn auf 2748 pmol/g in der Mahlzeitmitte an und erreichte den höchsten Wert bei Beendigung der Mahlzeit mit 3021 pmol/g ("Beginn" gegenüber "Ende": $p = 0,05$). Nach 30 Minuten war die Konzentration an 3'5'AMP wieder deutlich auf 1886 pmol/g abgefallen ("Ende" gegenüber "Ende + 30 min": $p < 0,05$).

Im Gegensatz zum Glykogenabbau in der Leber schien bereits während der Mahlzeit im Muskel Glykogen aufgebaut zu werden. Hier erhöhte sich die Glykogenkonzentration von 0,5% bei Mahlzeitbeginn auf 0,6% bei Beendigung der Mahlzeit und veränderte sich im weiteren Verlauf nicht mehr ("Beginn" und "Mitte" gegenüber "Ende" sowie "Ende + 30 min" jeweils: $p < 0,05$; graphische Darstellung in Abbildung 3).

Die Veränderungen der Plasmainsulinspiegel sind ebenfalls aus Abbildung 3 ersichtlich. Insulin wurde offenbar während der Mahlzeit in die Vena portae abgegeben, seine mittlere Konzentration erhöhte sich von 113 $\mu\text{U/ml}$ bei Mahlzeitbeginn auf 166 $\mu\text{U/ml}$ in der Mahlzeitmitte ("Beginn" gegenüber "Mitte": $p < 0,05$). Die Werte fielen gegen Ende der Mahlzeit leicht ab auf 156 $\mu\text{U/ml}$, 30 Minuten später deutlich auf 124 $\mu\text{U/ml}$ ab ("Mitte" gegenüber "Ende + 30 min": $p < 0,05$). Eine drastische Erhöhung des Insulinspiegels in der Aorta abdominalis erfolgte erst nach der Mahlzeit. 30 Minuten nach der Mahlzeit wurde mit 124 $\mu\text{U/ml}$ der gleiche Wert wie in der Vena portae erreicht. Dagegen lagen die Werte während der Mahlzeit bei etwa 80 $\mu\text{U/ml}$ ("Beginn" und "Ende" gegenüber "Ende + 30 min": $p < 0,05$). Ein Teil des

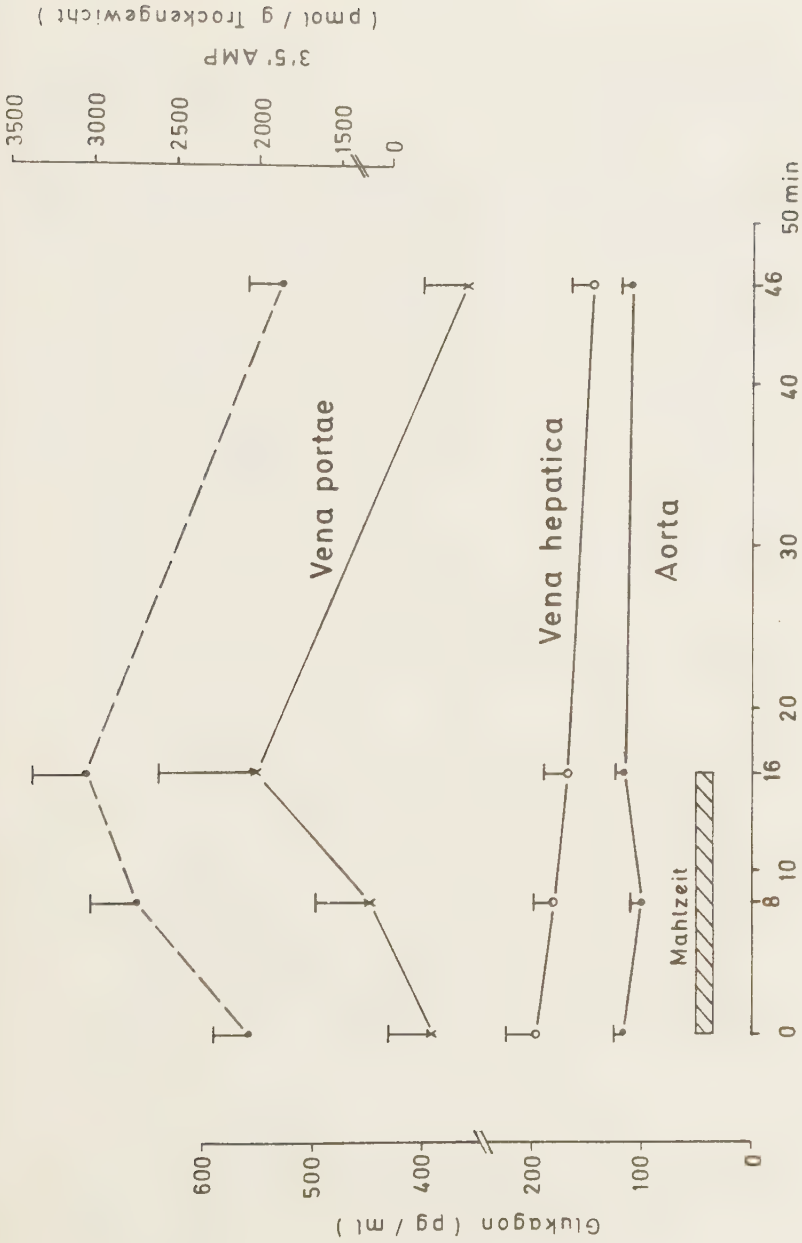


Abbildung 2 : Effekt spontaner Mahlzeiten auf den Plasmaglukagongehalt in Vena portae (---x---), Vena hepatica (---o---) und Aorta (---●---) sowie auf den 3'5'AMP-Gehalt der Leber (---)

sezernierten Insulins passiert demnach die Leber und erreicht die Peripherie.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE: Zusammenhängend lassen sich die Ergebnisse des ersten Experiments folgendermaßen darstellen: Es erfolgte eine deutliche Glukagonsekretion während der Mahlzeit. Der Glukagonanstieg war nur in der Vena portae meßbar. Weder in der Vena hepatica noch in der Aorta änderten sich die Glukagonspiegel während der Mahlzeit. Dies spricht für einen Verbleib des während der Mahlzeit vermehrt sezernierten Glukagons in der Leber. Wenn das während der Mahlzeit sezernierte Glukagon Sättigung induziert, liegt es deshalb nahe, einen hepatischen Sättigungsmechanismus zu vermuten. Daß das während der Mahlzeit freigesetzte Glukagon in der Leber wirksam wurde, lassen der Anstieg des 3'5'AMP-Gehalts der Leber bei gleichzeitigem Abfall des Leberglykogens vermuten. Der Glykogengehalt im Muskel stieg dagegen während der Mahlzeit leicht an, was die These unterstützt, daß Glukagon und nicht Adrenalin die Glykogenolyse in der Leber bewirkte, da Adrenalin die Glykogenolyse in der Leber und im Muskel bewirkt. Somit konnten wir zwar Hinweise auf eine verstärkte Glukagonwirkung während der Mahlzeit ermitteln, doch können die erhobenen Daten nicht als Beweis dafür angesehen werden, daß die mahlzeitbezogene Glykogenolyse wirklich durch das endogene Glukagon bedingt wird, noch daß diese Glykogenolyse oder das Glukagon selbst am Zustandekommen der Sättigung beteiligt sind.

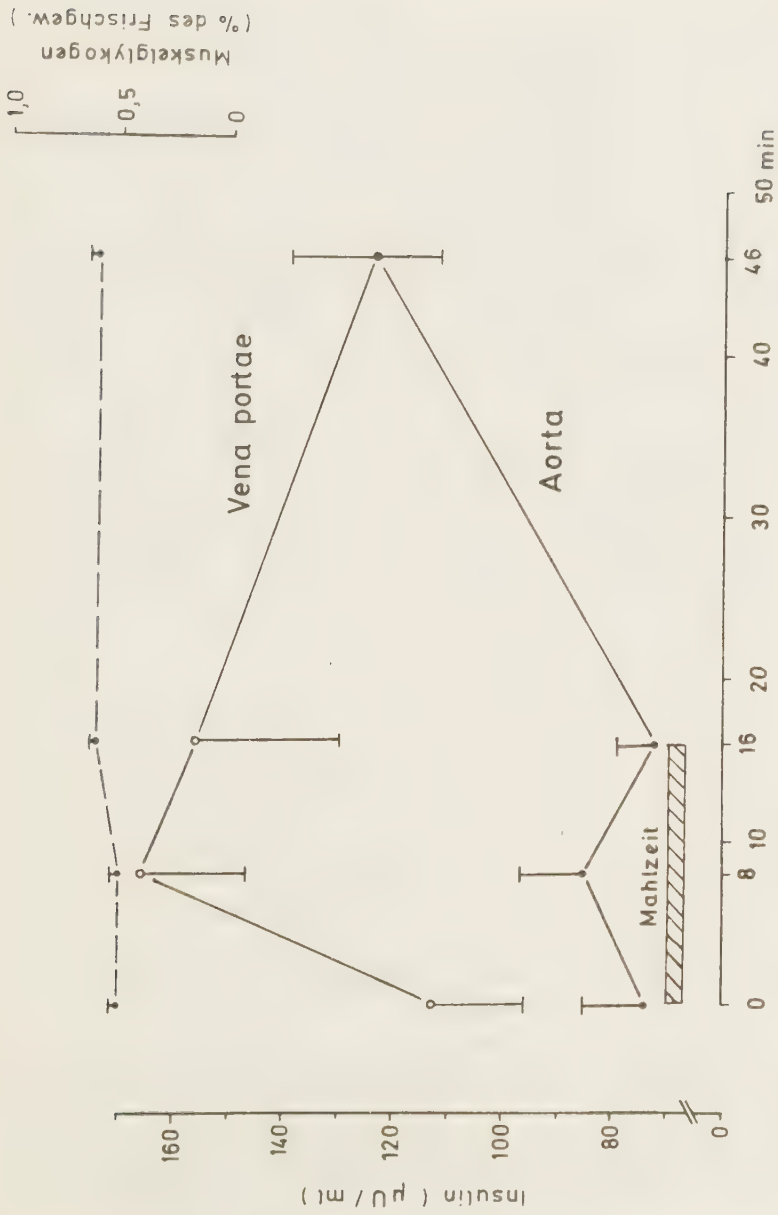


Abbildung 3 : Effekt spontaner Mahlzeiten auf den Plasmainsulingehalt in Vena portae (—●—) und Aorta (—●—) sowie auf den Muskelglykogengehalt (---○---) bei Ratten

EXPERIMENT II

EINLEITUNG: Um den Zusammenhang zwischen Glukagon, Glykogenolyse und Sättigung näher zu untersuchen, bietet es sich an, exogenes Glukagon zuzuführen, von dem bekannt ist, daß es zu einer Verzehrsdepression führt (16,52,67, 102). Interessant ist dabei vor allem das Metabolitenmuster am Ende der durch Glukagonzufuhr verkürzten Mahlzeit. Dieses wurde von Langhans bereits untersucht (25, 43). Er fand eine weitgehende Übereinstimmung zwischen den Blutglukosespiegeln und Leberglykogengehalten am Ende einer physiologischen Mahlzeit und einer nach Glukagoninjektion verkürzten Mahlzeit, wobei das Glukagon ($120 \mu\text{g}/\text{Tier}$) zu Beginn der ersten Mahlzeit nach zwölfstündigem Futterentzug intraperitoneal appliziert wurde. Dies unterstützt die These, daß die mahlzeitbezogene Glykogenolyse mit dem Zustandekommen der Sättigung am Ende der Mahlzeit zusammenhängt und daß als Auslöser der Glykogenolyse bzw. der Sättigung das Glukagon in Betracht kommt. Hier fehlt allerdings der Beweis, daß sich die Glukagonspiegel in der Pfortader nach intraperitonealer Injektion von $120 \mu\text{g}$ pro Tier in etwa im physiologischen Rahmen bewegen. Unklar ist dabei auch, wie sich die Glukagonspiegel unter diesen Versuchsbedingungen, nämlich nach längerem Futterentzug während einer Mahlzeit verhalten. Diesen beiden Fragen sollte im zweiten Experiment nachgegangen werden. Das Hauptgewicht lag also auf der Bestimmung des Glukagons, wobei wir uns diesmal auf die Vena portae beschränkten. Das Insulin wurde aus den bereits genannten Gründen (s. Exp. I) ebenfalls gemessen. In diesem Zusammenhang interessierte auch, ob exogenes Glukagon die Insulinsekretion stimuliert, was von Samols et al. beschrieben wurde (79,80). Auch in diesem Versuch wurden die Glukosespiegel in der Vena portae und der Vena hepatica sowie der Leberglykogengehalt nochmals bestimmt, um die Wirkung

von endogenem und exogenem Glukagon auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber vergleichen zu können.

VERSUCHSPLAN: Nach zwölfstündiger Nüchterung erhielten die Tiere eine Stunde nach Beginn der Dunkelphase Futter und wurden unauffällig beobachtet. Sofort bei Beginn der ersten Mahlzeit wurde den Tieren entweder $120\text{ }\mu\text{g}$ Glukagon oder NaCl-Lösung (s. Kapitel "Injektionen") zur Kontrolle intraperitoneal injiziert. Durch die Injektion ließen sich die Tiere nicht merklich stören. Eine Gruppe ("O") wurde sofort nach der NaCl-Injektion getötet. Alle mit Glukagon behandelten Tiere wurden am Ende ihrer Mahlzeit getötet (Gruppe "G"), ebenso ein Teil der mit Kontrolllösung behandelten Tiere (Gruppe "E"). Die restlichen Tiere wurden jeweils synchron zu den Glukagon-Tieren getötet (Gruppe "M"), was in etwa der Mitte ihrer Mahlzeit entsprach. Mahlzeitgröße und Mahlzeitdauer wurden ermittelt. Von allen Tieren nahmen wir Blutproben aus der Vena portae und der Vena hepatica sowie eine Leberprobe.

ERGEBNISSE: Die Mahlzeitgröße der Gruppe "E" wurde mit $2,5 \pm 0,3$ g bei einer Mahlzeitdauer von 22 ± 2 Minuten ermittelt. Demgegenüber nahmen die Tiere nach Glukagoninjektion ("G") $1,5 \pm 0,1$ g in 14 ± 1 Minuten auf. Der die Futteraufnahme reduzierende Effekt von exogenem Glukagon ließ sich also sicher reproduzieren (Mahlzeitgröße bzw. Mahlzeitdauer der Gruppe "E" gegenüber "G" signifikant verschieden: $p < 0,05$ bzw. $p < 0,02$).

Die Glukosekonzentrationen in der Vena portae und der Vena hepatica und die zugehörigen Leberglykogenwerte sind in Abbildung 4 dargestellt. Die wohl durch die lange Nüchterung bedingten niedrigen Glukosespiegel in der Vena portae am Beginn der Mahlzeit ("O") stiegen während der

Mahlzeit als Zeichen einer einsetzenden Resorption deutlich an ("O" gegenüber "M", "E" und "G": $p < 0,02$). Zwischen den letztgenannten Gruppen ergaben sich keine Unterschiede. Die Glukosekonzentrationen in der Vena hepatica stiegen von Beginn der Mahlzeit ("O") bis zur Mitte der Mahlzeit nach Kontrollinjektion ("M") geringgradig, bis zum Ende der Mahlzeit nach Kontrollinjektion ("E") bzw. nach Glukagoninjektion ("G") deutlich an ("O" gegenüber "E" und "G": $p < 0,002$). Zwischen den beiden Gruppen, die ihre Mahlzeit beendeten ("E" und "G") ergab sich kein signifikanter Unterschied.

Parallel zu den ansteigenden Glukosekonzentrationen in der Vena hepatica erfolgte ein Abfall des Leberglykogengehalts im Verlauf der Mahlzeit von 2,2 % zu Beginn der Mahlzeit ("O") über 2,0 % ("M") auf 1,6 % am Ende der Mahlzeit ("O" gegenüber "E": $p < 0,02$). Am Ende der Mahlzeit nach Glukagoninjektion lag der Glykogengehalt bei 1,3 % ("O" gegenüber "G": $p < 0,02$).

Die Ergebnisse der Hormonmessungen in der Vena portae sind in Abbildung 5 dargestellt. Bei den Kontrolltieren ergab sich bereits ein drastischer Anstieg des Plasmaglukagongehalts bis zur Mitte der Mahlzeit um 130 %, nämlich von 602 pg/ml auf 1385 pg/ml ("O" gegenüber "M": $p < 0,001$). Am Ende der Mahlzeit war der Glukagongehalt mit 1185 pg/ml noch fast doppelt so hoch wie am Anfang der Mahlzeit. Interessant ist, daß alle Werte höher liegen als bei den vergleichbaren Gruppen des ersten Versuchs.

Im Plasmainsulingehalt konnten in der Vena portae während der Mahlzeit keine Veränderungen festgestellt werden. Dabei waren die Werte aller drei Gruppen ("O", "M" und "E") mit denen des ersten Versuchs vergleichbar,

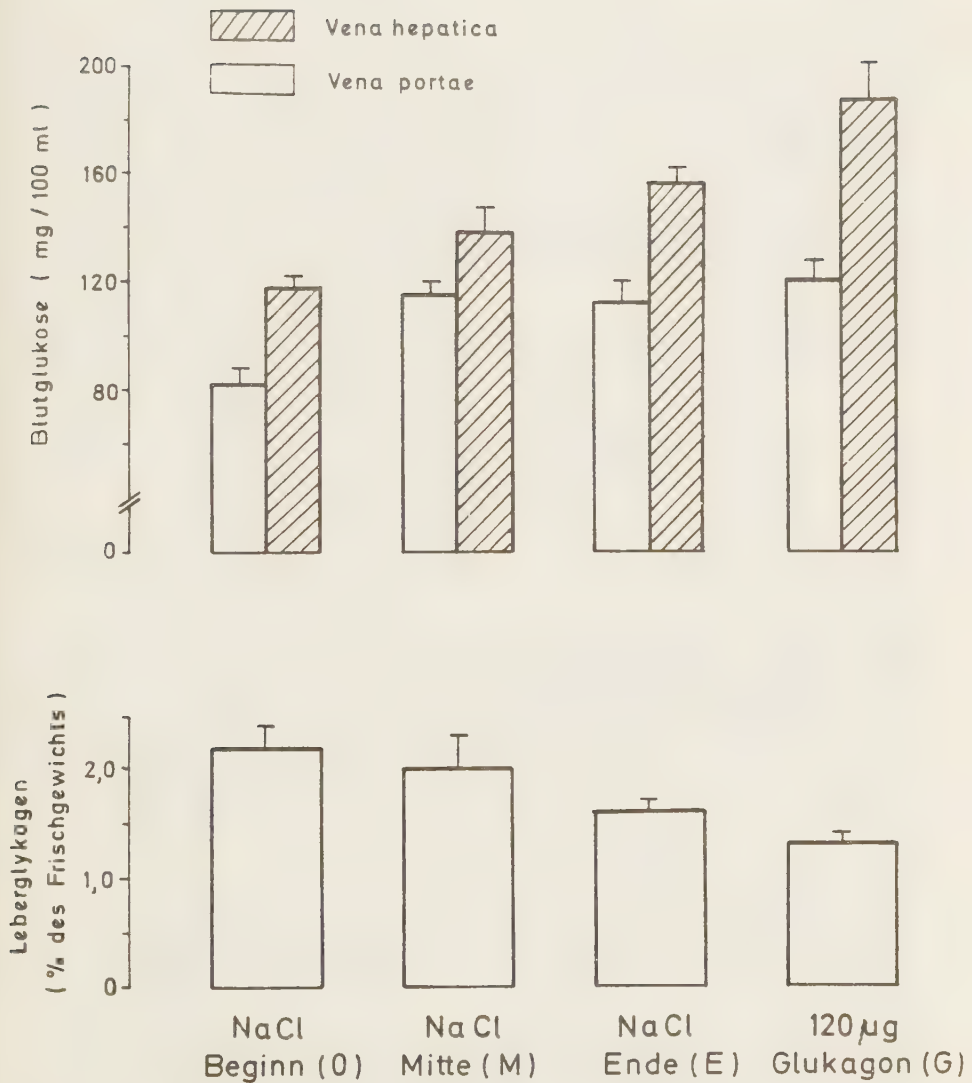


Abbildung 4 : Blutglukosegehalt in Vena hepatica und Vena portae sowie Leberglykogengehalt am Beginn, in der Mitte und am Ende einer Mahlzeit nach Injektion von Kontrollösung bzw. am Ende einer Mahlzeit nach Injektion von Glukagon. Die Injektionen erfolgten am Beginn der Mahlzeit.

die in der Mitte und am Ende einer physiologischen Mahlzeit ermittelt wurden.

Die Tiere, die nach Glukagoninjektion am Ende der Mahlzeit getötet wurden, zeigten einen Glukagongehalt von 4912 pg/ml. Interessant ist bei dieser Tiergruppe auch der Insulinspiegel, der mit 519 μ U/ml dreifach höher lag als bei den Kontrolltieren.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE: Wie bereits in anderen Arbeiten beschrieben (25,43), reduzierten die Glukagoninjektionen sowohl die Mahlzeitgröße als auch die Mahlzeitdauer. Bei den Kontrolltieren waren auch bei dieser Versuchsanordnung während der Aufnahme einer Mahlzeit sowohl ein Anstieg der portalen Plasmaglukagonkonzentrationen als auch ein Abfall der Leberglykogengehalte feststellbar. Im Vergleich zu den während spontaner Mahlzeiten ad libitum gefütterter Ratten (s. Experiment 1) gefundenen Werten lagen in diesem Experiment die portalen Glukagonkonzentrationen deutlich höher, die Glykogengehalte der Leber dagegen deutlich niedriger. Beides dürfte auf den zwölfstündigen Futterentzug vor Versuchsbeginn zurückzuführen sein (21). Auffällig sind die bereits zu Beginn der Mahlzeit recht hohen Insulinwerte, die sich im Verlauf der Mahlzeit auch nicht mehr änderten.

Die mahlzeitbegleitende Glykogenolyse erfolgte durch die Glukagoninjektion gewissermaßen "beschleunigt", so daß wir am Ende der Mahlzeiten, d. h. bei den Glukagontieren nach 14 Minuten und bei den Kontrolltieren nach 22 Minuten ähnliche Blutglukosewerte in der Vena hepatica sowie ähnliche Leberglykogenwerte vorfanden. Die Glukagonkonzentrationen in der Pfortader lagen jedoch am Ende der Mahlzeit nach Glukagoninjektion um den Faktor 4 höher als

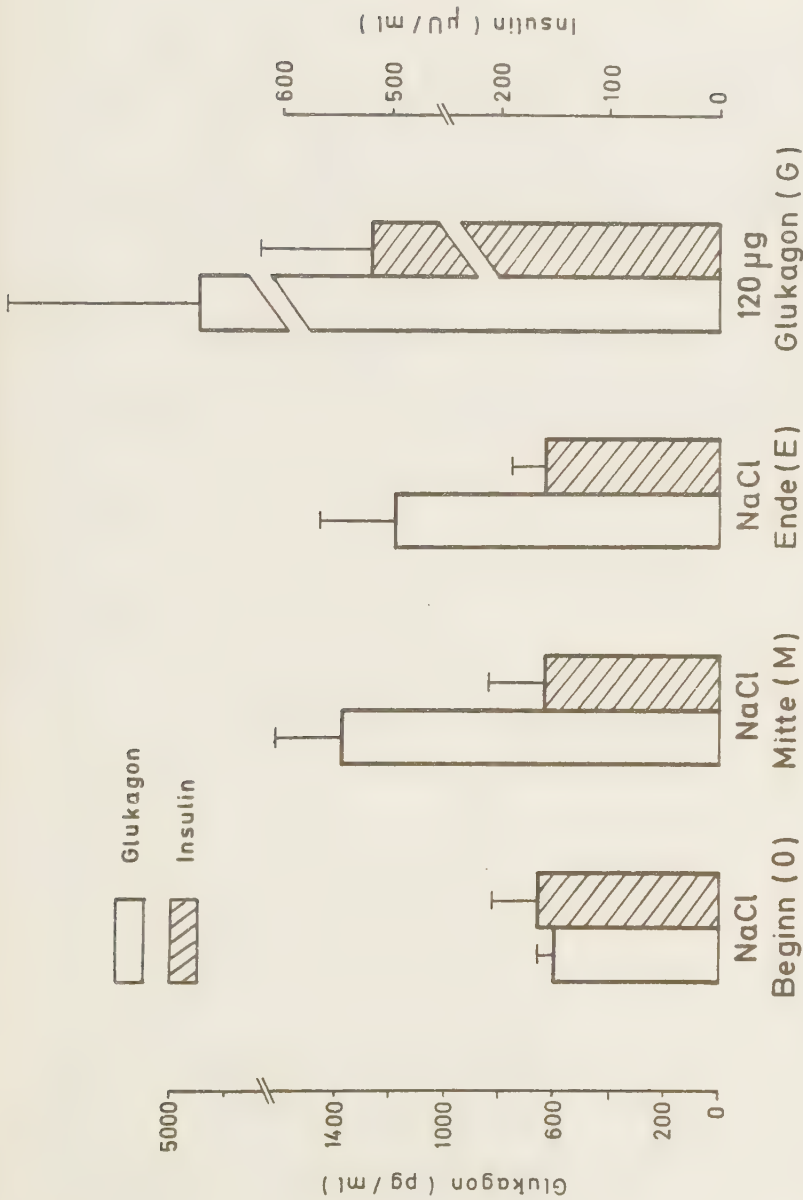


Abbildung 5 : Plasmaglukagon- und Plasmainsulingehalt in der Vena portae am Beginn, in der Mitte und am Ende einer Mahlzeit nach Injektion von Kontrolllösung bzw. am Ende einer Mahlzeit nach Injektion von Glukagon. Die Injektionen erfolgten am Beginn der Mahlzeit.

am Ende der Mahlzeit nach Kontrollinjektion. Somit konnten wir nicht zeigen, daß der Anstieg der portalen Glukagonkonzentration nach Injektion von Glukagondosen, die Sättigung induzieren, im physiologischen Bereich liegt, was ein deutliches Indiz dafür wäre, daß der während der Aufnahme einer Mahlzeit erfolgende Anstieg des Plasmaglukagongehalts am Zustandekommen der Sättigung beteiligt ist.

Der Plasmainsulingehalt lag nach der Glukagoninjektion um den Faktor 3 höher gegenüber den entsprechenden Kontrolltieren. Dies bestätigt, daß Glukagon die Insulinsekretion stimuliert (79,80).

EXPERIMENT III A UND B

EINLEITUNG: Wenn Glukagon als "Sättigungssignal" fungiert, so müßte durch Hemmung des Glukagonanstiegs während der Mahlzeit die Sättigung verzögert werden.

Glukagon läßt sich gezielt ausschalten mittels spezifisch gegen Glukagon gerichteter Antikörper. Glukagonantikörper fanden mehrfach Anwendung in der Erforschung der Rolle des Glukagons in der Regulation der Blutglukosehomöostase. Grey et al. (31) fanden nach Antikörperapplikation einen Abfall der Blutglukosespiegel bei hungernden, nicht jedoch bei ad libitum gefütterten Ratten. Auch Galbo und Holst sowie Holst et al. (24,35) konnten eine Hypoglykämie nach Antikörperapplikation nur bei Ratten zeigen, die sich körperlich stark anstrengen mußten, während der Glukosespiegel bei ruhenden Ratten unbeeinflußt blieb (9,24,35). Der Einfluß einer Glukagonantikörperapplikation auf das Verzehrsverhalten wurde noch nicht untersucht. Wenn das endogene Glukagon bei der Verzehrsregulation im Sinne eines "Sättigungssignals" fungiert, so müßte eine teilweise Inaktivierung dieses Hormons die Sättigung verzögern, d. h., eine gesteigerte Futteraufnahme bewirken. Dies sollte im folgenden Experiment überprüft werden.

Der zu diesem Zweck von uns verwendete Antikörper ist gegen das C-Terminal des pankreatischen Glukagons gerichtet (15,34). Hierzu ergibt sich folgende Problematik: Samols vermutete bereits 1965 die Existenz intestinalen Glukagons (79). Wenig später konnten Unger et al. (95) dies durch einen Anstieg der "glucagon-like immuno-reactivities" (GLI) nach Intraduodener Glukoseinfusion trotz vorausgegangener Pankreatektomie nachweisen. Zahlreiche Untersuchungen der Folgezeit bestätigten die Existenz und die große Heterogenität der gastrointestinalen GLI (1,15,34,46,97). Teils sind sie weder chemisch noch biologisch vom pankreatischen Glukagon zu unter-

scheiden (46,97). Nach Holst (34) werden die GII, die das gleiche C-Terminal wie pankreatisches Glukagon besitzen, inklusive des pankreatischen Glukagons, als "pancreatic-type glucagons" (PTG) bezeichnet, alle übrigen als "gut-type glucagons" (GTG). Eine Kreuzreaktion innerhalb der Gruppe der PTG ist also zu erwarten. Dies ist allerdings für die Interpretation unserer Ergebnisse unerheblich, da die Mitglieder dieser Gruppe sehr wahrscheinlich gleiche biologische Funktionen haben (34).

VERSUCHSPLAN ZU EXPERIMENT III A: In einem Futteraufnahmeversuch wurde der Effekt einer Glukagonantikörperapplikation auf das Verzehrverhalten untersucht. Zu diesem Zweck erhielten die Tiere nach einem zwölfstündigen Futterentzug um 11⁰⁰ Uhr (also eine Stunde nach Beginn der Dunkelphase) frisches Futter und wurden unauffällig beobachtet. Jeweils zu Beginn der ersten Mahlzeit erhielten die Ratten eine intraperitoneale Injektion von entweder Glukagonantikörpern oder der entsprechenden Kontrolllösung. Die Tiere ließen sich durch diese Manipulation nicht merklich stören und setzten ihre Mahlzeit unbeirrt fort. Registriert wurden die Dauer dieser ersten Mahlzeit, sowie die dabei aufgenommene Futtermenge. Wir achteten darauf, daß die Tiere am Ende der Mahlzeit das typische Sättigungsverhalten zeigten (5).

ERGEBNISSE DES EXPERIMENTS III A: Die Tiere, die eine Kontrollinjektion erhielten, beendeten ihre Mahlzeit in durchschnittlich 23 Minuten und nahmen dabei 2,7 g Futter auf. Dies entspricht den Werten des vorherigen Versuchs bei gleichem Versuchsansatz. Dagegen benötigten die Tiere nach der Glukagonantikörper-Injektion für die erste Mahlzeit 40 Minuten und fraßen dabei 4,4 g Futter (Abb. 6). Sowohl der Unterschied in der Mahlzeitdauer

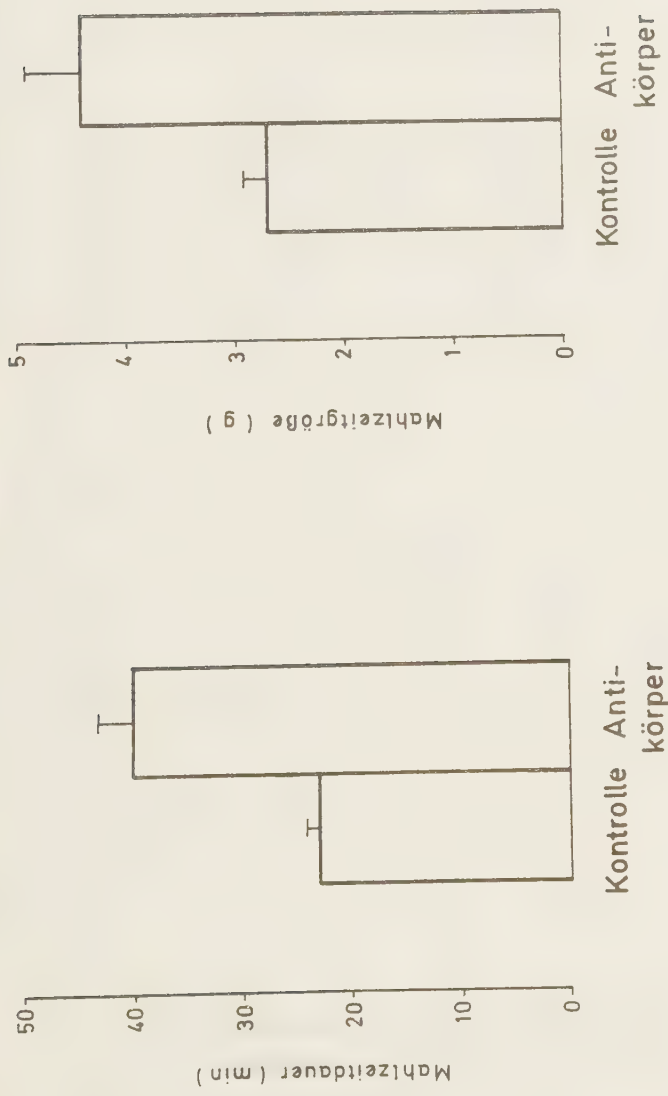


Abbildung 6 : Mahlzeitgröße und Mahlzeitdauer nach Injektion von Glukagonantikörpern bzw. Kontrolllösung am Beginn der Mahlzeit

wie der in der Mahlzeitgröße waren hoch signifikant ("Kontrolle" gegenüber "Antikörper": $p < 0,002$).

VERSUCHSPLAN ZU EXPERIMENT III B: Da durch die Behandlung mit Glukagonantikörpern die Mahlzeitdauer um 74 % und die Mahlzeitgröße um 63 % gegenüber den Kontrollen vergrößert war, interessierten nun besonders die durch die Antikörperinjektion hervorgerufenen metabolischen Veränderungen. Die Versuchsanordnung wurde beibehalten (zwölfständiger Futterentzug, Rückgabe des Futters eine Stunde nach Beginn der Dunkelphase, intraperitoneale Injektion zu Beginn der ersten Mahlzeit von Glukagonantikörpern bzw. Kontrolllösung). Die Tiere einer Gruppe wurden sofort nach der Kontrollinjektion getötet. Die übrigen Tiere, die eine Kontrollinjektion erhalten hatten, wurden nach Beendigung ihrer Mahlzeit getötet, die durchschnittlich 21 Minuten dauerte. Synchron töteten wir die mit Glukagonantikörpern behandelten Ratten. Nach dem vorausgehenden Futteraufnahmeversuch war anzunehmen, daß sich diese Ratten etwa in der Mitte ihrer Mahlzeit befanden. Um die Auswirkungen der Antikörperbehandlung auf den Kohlenhydratstoffwechsel der Leber untersuchen zu können, entnahmen wir für die Glukosebestimmung Blut aus der Vena hepatica und der Vena portae sowie für die Glykogen- und die 3'5'AMP-Messung eine Leberprobe. In der Vena portae wurden der Glukagon- und Insulingehalt des Plasma gemessen.

ERGEBNISSE DES EXPERIMENTS III B: Die Ergebnisse der Glukose-, Glykogen- und 3'5'AMP-Bestimmung sind in Abbildung 7 dargestellt. Die Blutglukosekonzentration in der Pfortader stieg bei beiden Gruppen, die fressen durften, als Zeichen einer einsetzenden Resorption deutlich an ("Beginn" gegenüber "Ende" bzw. "Antikörper":

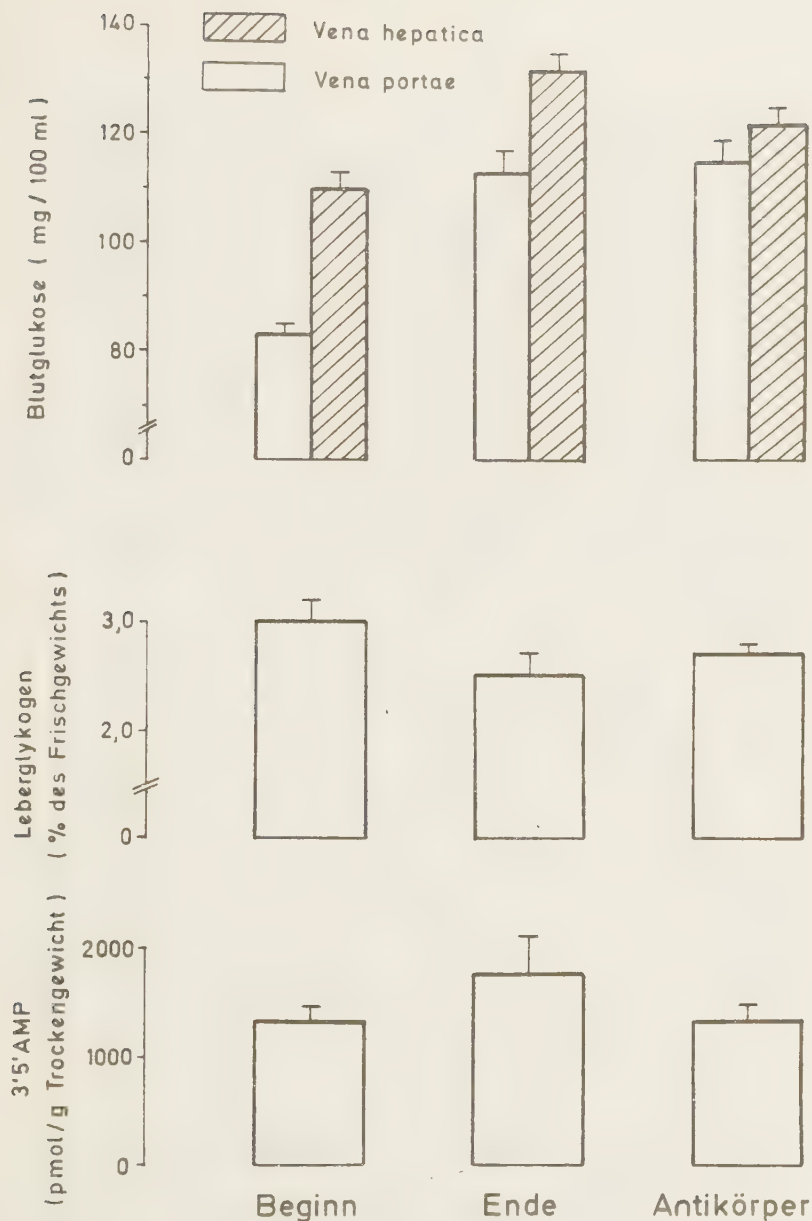


Abbildung 7 : Blutglukosegehalt in Vena hepatica und Vena portae, Leberglykogen- und 3'5'AMP-Gehalt der Leber am Beginn und am Ende (21 ± 1 min) einer Mahlzeit nach Kontrollinjektion bzw. in der Mitte (21 ± 1 min) einer Mahlzeit nach Glukagonantikörperinjektion. Die Injektionen erfolgten am Beginn der Mahlzeit.

$p < 0,001$). In der Vena hepatica erfolgte ein Blutglukoseanstieg von Beginn der Mahlzeit bis zu ihrem Ende nach Kontrollinjektion ("Beginn" gegenüber "Ende": $p < 0,001$). Bei den mit Antikörpern behandelten Tieren erfolgte ebenfalls ein Anstieg der Glukosekonzentration in der Vena hepatica ("Beginn" gegenüber "Antikörper": $p < 0,05$), der aber deutlich niedriger lag als bei der Tiergruppe, die am Ende der Mahlzeit nach Kontrollinjektion getötet wurde ("Antikörper" gegenüber "Ende": $p < 0,05$).

Der Leberglykogengehalt sank vom Beginn zum Ende der Mahlzeit nach Kontrollinjektion von 3,0 % auf 2,5 % ab ("Beginn" gegenüber "Ende": $p < 0,05$). Der Abfall war bei der mit Glukagonantikörpern behandelten Gruppe nicht so deutlich (2,7 %) und nicht signifikant.

Der 3'5'AMP-Gehalt der Leber stieg von 1369 pmol/g zu Beginn der Mahlzeit auf 1752 pmol/g am Ende der Mahlzeit an. Die Antikörpertiere zeigten während der Mahlzeit keinen Anstieg (1369 pmol/g).

Die Ergebnisse der Hormonmessungen sind in Abbildung 8 dargestellt.

Bei den Kontrolltieren erfolgte während der Aufnahme einer Mahlzeit ein Anstieg der portalen Glukagonkonzentration von 39 pg/ml auf 75 pg/ml ("Beginn" gegenüber "Ende": $p < 0,05$). Der Anstieg war bei den Antikörpertieren nicht signifikant und lag mit 51 pg/ml um 32% niedriger als bei der entsprechenden Kontrollgruppe am Ende der Mahlzeit.

Der Plasmainsulinspiegel der Vena portae war mit 178 μ U/ml am Mahlzeitbeginn so hoch wie an deren Ende (174 μ U/ml). Die Antikörpertiere hatten einen niedrigeren Plasmainsulingehalt (121 μ U/ml).

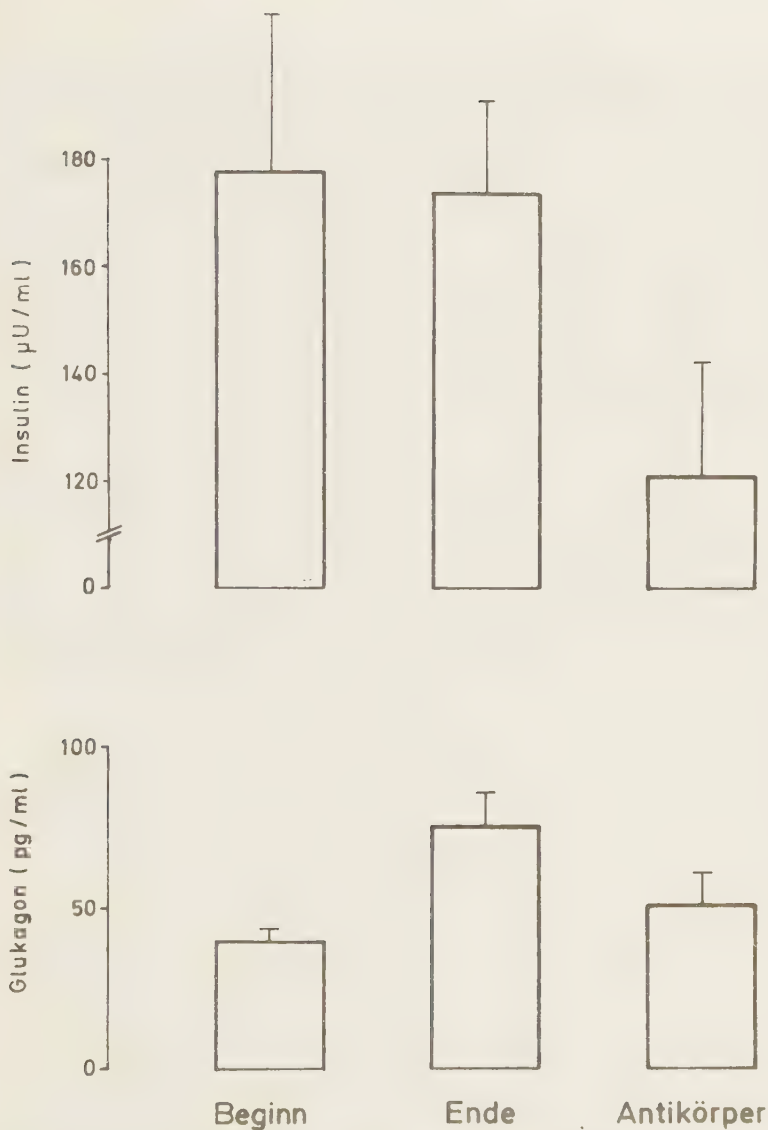


Abbildung 8 : Plasmainsulin- und Plasmaglukagongehalt in der Vena portae am Beginn und am Ende (21 ± 1 min) einer Mahlzeit nach Kontrollinjektion bzw. in der Mitte (21 ± 1 min) einer Mahlzeit nach Glukagonantikörperinjektion. Die Injektionen erfolgten am Beginn der Mahlzeit.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE: Die unmittelbar auf eine Glukagonantikörperapplikation folgende Mahlzeit war gegenüber den Kontrollen deutlich vergrößert und verlängert, d. h., die Sättigung wurde erst viel später und nach Aufnahme einer größeren Futtermenge erreicht. Dies belegt, daß endogenes Glukagon am Zustandekommen der Sättigung beteiligt ist. Zu dem Zeitpunkt, der bei den mit Glukagonantikörpern behandelten Tieren etwa der Mitte der Mahlzeit entsprach, ermittelten wir einige interessante Unterschiede zu den Kontrolltieren, die zum betreffenden Zeitpunkt ihre Mahlzeit bereits beendet hatten.

Wie in den vorhergehenden Experimenten stieg bei den Kontrolltieren der portale Plasmaglukagonspiegel während der Aufnahme der Mahlzeit an. Dieser Anstieg war bei den Antikörpertieren geringer, d. h., durch die Antikörper wurde ein Teil des endogenen Glukagons neutralisiert. Auffallend sind die vergleichsweise geringen Glukagonkonzentrationen. Möglicherweise wurde bei der Äthanol-extraktion zusätzlich zum antikörpergebundenen Glukagon (s. Kapitel "Glukagon") eine Glukagonfraktion mit ausgefällt, die mit den spezifisch gegen pankreatisches Glukagon gerichteten Antikörpern reagiert und somit im Radioimmuntest als "pancreatic-type glucagon" (PTG) erfaßt wird (38,82). Diese als "big plasma glucagon" (BPG) bezeichnete Fraktion soll ein Glukagon vom Molekulargewicht 3500 sein, das an ein Plasmaprotein gebunden ist (38) und macht 66-90 % des PTG aus (82).

Die Resorption setzte bei beiden Gruppen, die fressen durften ("Ende" und "Antikörper"), gleich stark ein, d. h., die Glukosespiegel in der Vena portae beider Gruppen lagen gleich hoch. Dagegen war der Glukoseausstrom aus der Leber, wie die Blutglukosewerte der Vena hepatica zeigen, bei den Kontrolltieren deutlich stärker. Parallel schien der Glykogenabbau in der Leber bei der Antikörpergruppe gegenüber

der Kontrollgruppe während der Mahlzeit verzögert zu sein. Unterschiedlich war auch der $3'5'$ AMP-Gehalt der Leber zwischen diesen beiden Gruppen. Die Kontrolltiere zeigten einen Anstieg dieses "second messenger" vom Beginn zum Ende der Mahlzeit. Dieser Anstieg fehlte bei der Antikörpergruppe.

Aus diesen Ergebnissen können wir schließen, daß die injizierten Antikörper zumindest einen Teil des endogenen Glukagons neutralisierten und daß endogenes Glukagon während der Aufnahme von Mahlzeiten glykogenolytisch wirkt. Offen bleibt die Frage, ob die Verzögerung der Sättigung mit der Verzögerung der Glykogenolyse zusammenhängt, oder ob die Sättigung durch einen anderen Glukagoneffekt bewirkt wird.

Ein hemmender Einfluß nach der Injektion von Glukagonantikörpern konnte auch auf die Insulinsekretion festgestellt werden. Dies unterstützt die bereits erwähnte These, daß Glukagon die Insulinsekretion stimuliert (80).

D I S K U S S I O N

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die hypothetische Funktion des Glukagons als "Sättigungshormon" näher zu untersuchen. Dabei sollte auch der Frage nachgegangen werden, ob ein kausaler Zusammenhang zwischen dem Glukagon, der während einer Mahlzeit erfolgenden Glykogenolyse und der Sättigung besteht.

Wie bereits in der Literaturübersicht erwähnt, müssen an ein humorales Sättigungssignal bestimmte Anforderungen gestellt werden. Die betreffende Substanz muß während einer Mahlzeit in die Blutbahn abgegeben werden. Ihre exogene Zufuhr muß zudem Sättigung erzeugen. Dabei darf die Verzehrsreduktion nicht auf einem toxischen Effekt dieser Substanz oder auf einer Aversion beruhen. Hinsichtlich des Glukagons fanden wir unter allen geprüften Bedingungen einen Glukagonanstieg in der Pfortader während der Mahlzeit. Demgegenüber war weder in der Vena hepatica noch in der Aorta ein Glukagonanstieg während spontaner Mahlzeiten feststellbar. Dies steht im Widerspruch zu anderen Arbeiten. So steigt nach Samols (79) beim Menschen während oraler Glukosezufuhr der Plasmaglukagongehalt im peripheren venösen Blut an, wobei jedoch nicht zwischen pankreatischem und intestinalem Glukagon unterschieden wurde. Auch bei der Ratte (19) wurde während der Nahrungsaufnahme ein Anstieg des Plasmaglukagongehalts im cardialen Blut gemessen. Andere Versuchsbedingungen können für diese Unterschiede verantwortlich sein. Im Pfortaderplasma konnte ein Glukagonanstieg während der Mahlzeit erst kürzlich gezeigt werden (58).

Nach Injektion von exogenem Glukagon ermittelten wir eine deutlich verkürzte und verkleinerte Mahlzeit, d. h.

unter unseren Versuchsbedingungen induzierte exogenes Glukagon Sättigung. Dieses Ergebnis bestätigt Befunde anderer Autoren (25,43). Daß exogenes Glukagon keine toxische Wirkung entfaltet oder eine Aversion hervorruft, wurde kürzlich von Geary und Smith (27) gezeigt. Den Beweis, daß der Anstieg der portalen Plasmaglukagonkonzentrationen nach Injektion von Glukagondosen, die Sättigung induzieren, im physiologischen Bereich liegt, konnten wir nicht erbringen. Dies wäre zwar ein deutlicher Hinweis darauf, daß auch unter physiologischen Verhältnissen das endogene Glukagon für das Zustandekommen der Sättigung mit verantwortlich ist, doch widersprechen unsere Befunde auch nicht dieser These. Geary und Smith konnten z. B. mit Hilfe einer empfindlicheren Versuchsanordnung eine Verzehrsreduktion nach sehr viel geringeren Glukagondosen beobachten (27), doch fehlt hierzu leider die Bestimmung des Plasmaglukagons.

Eindeutig sind nun allerdings die Ergebnisse, die wir nach gezielter Ausschaltung des während einer Mahlzeit sezernierten endogenen Glukagons mittels spezifischer Antikörper erhielten: Die Mahlzeit war deutlich vergrößert und verlängert, die Sättigung also verzögert. Dies ist ein eindeutiger Beweis dafür, daß unter den geprüften Bedingungen endogenes Glukagon, das während einer Mahlzeit sezerniert wird, an der Beendigung dieser Mahlzeit mitwirkt. Endogenes Glukagon ist also am Zustandekommen der Sättigung beteiligt.

Unbekannt ist, über welchen Mechanismus Glukagon Sättigung induziert. Aus mehreren Gründen wurde ein Zusammenhang mit dem Kohlenhydratstoffwechsel vermutet. Zwei der wichtigsten bisher bekannten Effekte von Glukagon sind die Stimulierung der Glykogenolyse und der Glukoneogenese in der Leber (72). Kürzlich wurde berichtet, daß die Aufnahme einer Mahlzeit von einer Glykogenolyse

begleitet ist (43,44). Auch während einer nach Glukagoninjektion verkürzten Mahlzeit erfolgte eine starke Glykogenolyse (25,43). Interessant ist dabei auch, daß die gewählte Glukagondosis in diesem Versuch zu gering war, das Fettgewebe zu beeinflussen, also lipolytisch zu wirken. Man weiß inzwischen auch, daß die durch Glukagon bedingte Glykogenolyse ein schnell, aber zeitlich begrenzt ablaufender Vorgang ist (13), während die Glukoneogenese unter Glukagoneinfluß langsam und stetig stattfindet (13). Es wäre also denkbar, daß diese innerhalb weniger Minuten ablaufende Glykogenolyse durch den gleichzeitigen Glukagonanstieg im Pfortaderplasma verursacht wird und daß diese Glykogenolyse das zur Sättigung führende Funktionsprinzip des Glukagons ist. In diese Richtung weist auch die Tatsache, daß eine Glukagoninjektion bei Tieren mit sehr niedrigen Leberglykogengehalten keinen Einfluß auf den Verzehr hat (52). Daß der Sättigungsmechanismus von Glukagon im Splanchnikusgebiet zu suchen ist, ist auch nach Martin et al. (53) wahrscheinlich: Nach subdiaphragmatischer Vagotomie entfällt der verzehrsreduzierende Effekt einer intraportalen Glukagoninfusion. Letzteres könnte auch dadurch bedingt sein, daß hepatische vagale Afferenzen, die laut Nijima (59,60) sehr empfindlich auf Änderungen der Glukosekonzentration in der Leber reagieren, nicht mehr die Information über eine glykogenolytisch bedingte Hyperglykämie an das ZNS übermitteln können. Es muß aber nicht unbedingt die Glukosekonzentration sein, die von diesen vagalen Ästen registriert wird. Nach Theorien von Russek (78) ist das entscheidende Kriterium für die Auslösung von Hunger und Sättigung das Membranpotential innervierter Hepatozyten. Die Informationsübermittlung an das ZNS soll dabei ebenfalls über den Nervus vagus ablaufen. Das Potential soll nach Russek von Änderungen des Glukoseeffluxes abhängig sein, d. h., auch nach dieser Theorie ergibt sich ein Anhaltspunkt dafür,

daß Glukagon über die Glykogenolyse Sättigung induzieren könnte. Einschränkend muß hier allerdings gesagt werden, daß Glukagon selbst bereits das Membranpotential der Leberzellen beeinflußt (45).

Betrachtet man die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, so scheint das Glukagon wirklich für die mahlzeitbezogene Glykogenolyse mit verantwortlich zu sein: Parallel zur Glukagonkonzentration im Pfortaderplasma stieg während spontaner Mahlzeiten das die Glukagonwirkung vermittelnde 3'5'AMP in der Leber bei gleichzeitigem Abfall des Leberglykogens an. Die Glykogenolyse war auf die Leber beschränkt, im Muskel fand eher eine Glykogensynthese statt. Dies ist ein Indiz dafür, daß Glukagon und nicht Adrenalin die Glykogenolyse in der Leber bedingte, denn Glukagon ist im Gegensatz zu Adrenalin bezüglich dieser Wirkung leberspezifisch. Durch Glukagoninjektionen ließ sich die Glykogenolyse beschleunigen. Teilweise Inaktivierung des endogenen Glukagons schien die Glykogenolyse zu verzögern. Zwar fanden wir eine auffällige Parallelität zwischen beschleunigter Glykogenolyse und verringerter Futteraufnahme und andererseits verzögerter Glykogenolyse und erhöhter Futteraufnahme, doch können wir nicht sagen, ob letztlich die mahlzeitbezogene Glykogenolyse als "Sättigungssignal" fungiert.

Wir konnten zeigen, daß Glukagon am Zustandekommen der Sättigung beteiligt ist. Doch ist es unwahrscheinlich, daß eine so wichtige Funktion wie die Nahrungsaufnahme der Kontrolle eines einzelnen Hormons unterliegt. Es scheinen vielmehr mehrere Faktoren am Sättigungsmechanismus beteiligt zu sein.

Unter diesen Faktoren nimmt das Insulin eine Sonderstellung ein, denn es antagonisiert direkt die Stoff-

wechselwirkungen des Glukagons. Da Insulin, ähnlich wie Glukagon, während der Aufnahme von Mahlzeiten sezerniert wird (48,88,92,93), könnten sich die Wirkungen beider Hormone aufheben. Auch wir stellten unter physiologischen Bedingungen, also während spontaner Mahlzeiten, einen Insulinanstieg im Plasma fest. Gleichzeitig erfolgte aber eine Glykogenolyse in der Leber, die, wie oben ausgeführt, auf Glukagon zurückzuführen sein dürfte. Wahrscheinlich schränkt zwar der Insulinanstieg die Stärke der Glykogenolyse ein (13), ist aber nicht stark genug, diesen Glukagoneffekt völlig zu unterbinden (50). Interessant ist in diesem Zusammenhang, daß ein Teil des sezernierten Insulins die Leber passierte und in der Peripherie für einen Hormonanstieg sorgte, während das während der Mahlzeit sezernierte Glukagon völlig in der Leber verblieb. Anders ausgedrückt, lag am Erfolgsorgan Leber wohl ein relativer Glukagonüberschuß vor. Daß die Relation von Glukagon und Insulin und das aus dieser Relation resultierende Stoffwechsellmuster für die Regulation der Nahrungsaufnahme wichtig sein könnte und nicht die absoluten Konzentrationen der beiden Hormone, wurde bereits mehrfach vermutet (16,65). Warum wir während der Aufnahme von Mahlzeiten nach längerer Nüchterung keinen Insulinanstieg fanden, können wir bislang nicht erklären. Möglich ist, daß der sog. "early insulin response", den Strubbe und Steffens (92) beschrieben, unter diesen Bedingungen bereits vor dem Zeitpunkt erfolgte, den wir als den Beginn der Mahlzeit erfaßten. Eine andere Erklärung könnte darin liegen, daß die unter Fastenbedingungen hohen Glukagonspiegel bereits zu einer Erhöhung des basalen Insulinspiegels führten. Ein stimulierender Effekt von Glukagon auf die Insulinsekretion ist bekannt (79,80). Dies können wir bestätigen, denn nach Glukagoninjektion waren die Insulinwerte deutlich erhöht, während eine Inaktivierung des endogenen Glukagons die Plasma-insulinwerte senkte. Aus letzterem könnte man sogar

schließen, daß für die Insulinsekretion während einer Mahlzeit ein ausreichender Glukagonspiegel Voraussetzung ist. Diese Abhängigkeit läßt es gleichzeitig zweifelhaft erscheinen, daß Insulin selbst als "Sättigungssignal" fungiert, wie Deetz et al. (17,18) kürzlich vermuteten.

Der Einfluß von Plasmametaboliten auf die Glukagonsekretion ist seit langem bekannt. Er kann im Sinne eines funktionellen Rückkopplungsmechanismus interpretiert werden. So wurde gezeigt, daß Glukoseinfusionen die Plasmaglukagonkonzentration senken (21), wohingegen Infusionen von Aminosäuren, insbesondere von Arginin (21), oder ein durch proteinreiche Ernährung induzierter Anstieg der Plasmaamino-säurenkonzentration (22,57) die Glukagonspiegel erhöhen. Bezüglich des Einflusses freier Fettsäuren auf die Glukagonspiegel liegen widersprüchliche Resultate vor (21). Diese Befunde erklären allerdings nicht, warum es innerhalb kürzester Zeit nach Beginn einer Mahlzeit, unabhängig vom Mahlzeittyp und vor einer möglichen Resorption bereits zu einer deutlichen Glukagonantwort kommt, die de Jong et al. (19) als "early glucagon response" bezeichnen.

Als Auslöser für die während der Aufnahme einer Mahlzeit erfolgende Glukagonsekretion kommen vor allem bestimmte Gastrointestinalhormone in Betracht. Diese in chromaffinen Zellen des Gastrointestinaltrakts produzierten Polypeptide werden auf Reize hin, die von der aufgenommenen Nahrung ausgehen, in die Blutbahn sezerniert, wobei sich bezüglich der Stärke der jeweiligen Hormonantworten und dem entstehenden Hormonmuster Abhängigkeiten ergeben von der Art und Zusammensetzung der Nahrung (98). Einige dieser Hormone beeinflussen die endokrine Tätigkeit der pankreatischen Inselzellen. So stimulieren die Hormone vasoactive intestinal peptide (VIP), gastric inhibitory

polypeptide (GIP), Cholezystokinin, Gastrin, Bombesin, Neotensin und substance P die Glukagonsekretion (21), während Sekretin und vor allem Somatostatin die Glukagonsekretion hemmen (21). Die genannten Gastrointestinalhormone können über den Blutweg das Pankreas sehr schnell erreichen. Diese sog. "Enteroinsulare Achse" (96) könnte somit ein effektvolles Regelsystem für die Hormonantwort des Pankreas auf die Nahrungsaufnahme darstellen. Einige dieser Gastrointestinalhormone sind von besonderem Interesse, weil sie die eingangs erwähnten Anforderungen teils erfüllen, die an ein Sättigungssignal gestellt werden und so dem Glukagon den Rang als Sättigungshormon streitig machen. Das Cholezystokinin erzeugt Sättigung nach intraperitonealer, subcutaner oder intravenöser Injektion bei Ratten (5,28), Schweinen (4) und Affen (29), als auch nach Injektion in den lateralen Hirnventrikel von Ratten (51) und Schafen (20), ohne toxische Erscheinungen hervorzurufen (28). Caerulein, das einer Form des Cholezystokinins, dem Cholezystokinin-8, weitgehend entspricht, hemmt die Futteraufnahme nach Applikation in den ventromedialen Hypothalamus von Ratten (91). Auch Bombesin erzeugt bei Ratten eine deutliche Sättigung, ohne toxische Effekte hervorzurufen (30). Bezüglich dieser potentiellen Sättigungshormone liegen allerdings noch keine so eindeutig zu interpretierenden Versuchsergebnisse vor, wie wir sie durch gezielte Ausschaltung des Glukagons erhielten. Auffallend ist, daß alle drei genannten Gastrointestinalhormone die Glukagonsekretion stimulieren (21), so daß ihr sättigender Effekt auch ein Glukagoneffekt sein könnte (43).

Auch dem Nervensystem scheint eine wichtige Funktion bei der Regulation der Glukagonsekretion zuzukommen. Elektrische Stimulation des als "Sättigungszentrum" angesehenen ventromedialen Hypothalamus (VMH) bewirkt einen

Anstieg des Plasmaglukagons sowie eine Reduzierung des Plasmainsulins (85). Zerstörung des VMH hat den gegenteiligen Effekt (14). Injektion von Noradrenalin (19) oder von Acetylcholin (85) in den VMH führt zu einem Anstieg des Plasmaglukagonspiegels. Injektion von Noradrenalin in den ventrolateralen Hypothalamus (VLH) hat keinen Einfluß auf die Glukagonsekretion (19). Neueren Berichten zufolge könnten die oben beschriebenen Befunde auf eine Beeinflussung von Axonen zurückzuführen sein, die den VMH und VLH passieren und mit Kerngebieten der *Formatio reticularis* und der *Substantia nigra* in Verbindung stehen (64). Auch Untersuchungen an peripheren Nerven weisen auf eine nervale Kontrolle des Inselapparates hin. Elektrische Reizung des Nervus vagus stimuliert die Glukagon- und Insulinsekretion beim Hund (39) und beim Schwein (36). Einiges weist also hinsichtlich der Regulation der Glukagonsekretion auf zentrale Steuerungsmechanismen hin. So könnte der Glukagonanstieg des Plasmas während der Aufnahme einer Mahlzeit reflektorisch bedingt sein. In diesem Zusammenhang vermuteten de Jong et al. (19) als Ursache des "early glucagon response" einen Reflexbogen, der vom Gastrointestinalum ausgehend über den VMH die Glukagonsekretion des Pankreas stimuliert. Doch sind Untersuchungen am ZNS sehr diffizil und die Ergebnisse daher teils sehr widersprüchlich, so daß noch keine endgültigen diesbezüglichen Aussagen getroffen werden können.

Noch wenig erforscht sind Kontrollmechanismen, die im Inselapparat selbst lokalisiert sind. Bekannt sind die Wechselwirkungen zwischen Insulin, Glukagon und Somatostatin. Insulin hemmt die Glukagonsekretion (80). Glukagon stimuliert die Insulin- und Somatostatinsekretion (66,80) und Somatostatin hemmt sowohl die Glukagon- als auch die Insulinsekretion (42). Einen deutlichen

Einfluß von Glukagon auf den Plasmainsulinspiegel konnten auch wir in unseren Experimenten feststellen. Exogene Glukagonzufuhr erhöhte den Insulinspiegel drastisch, während eine Inaktivierung des endogenen Glukagons mittels spezifischer Antikörper den Insulinspiegel senkte. Die Informationsübermittlung über den jeweiligen Sekretionsstatus des endokrinen Pankreas könnte sich von Zelle zu Zelle über tunnelähnliche, sehr enge Zellkontakte, die sog. "gap junctions", vollziehen (99). Möglich ist auch eine Kommunikation über den interzellulären Raum mittels lokal sezernierter Peptide (99).

Wahrscheinlich dürfen die genannten Faktoren nicht isoliert betrachtet werden. Wie sie jedoch letztlich zusammenwirken, um die Glukagonsekretion bzw. die Nahrungsaufnahme effektiv zu kontrollieren, bleibt Spekulationen überlassen.

Mit der vorliegenden Arbeit konnten wir einen eindeutigen Beleg für eine Beteiligung des pankreatischen Glukagons am Zustandekommen der Sättigung erbringen.

Des weiteren ergaben sich Anhaltspunkte für einen kausalen Zusammenhang zwischen der "mahlzeitinduzierten" Glukagonsekretion, der Glykogenolyse und der Sättigung.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Rolle des pankreatischen Glukagons bei der Regulation der Nahrungsaufnahme aufzuklären. Dabei wurde vor allem geprüft, ob Glukagon als Auslöser der mahlzeitbezogenen Glykogenolyse sowie als "Sättigungshormon" in Betracht kommt. Es wurde daher der Einfluß spontaner Mahlzeiten ad libitum gefütterter Ratten auf die Plasmaglukagonkonzentration sowie auf die Parameter des Kohlenhydratstoffwechsels der Leber, einschließlich des hepatischen 3'5'AMP-Gehalts, untersucht. Weiterhin wurde geprüft, wie sich Injektionen von Glukagon bzw. Glukagonantikörpern auf den Verzehr sowie den hepatischen Kohlenhydratstoffwechsel und die Plasmaglukagonkonzentration auswirken. Es wurden folgende Befunde erhoben:

1. Die Aufnahme spontaner Mahlzeiten ging mit einer Erhöhung der Plasmaglukagonkonzentration in der Pfortader und einer kurzfristigen hepatischen Glykogenolyse einher. Parallel dazu stieg der Gehalt des hepatischen 3'5'AMP an, das die Glukagonwirkung in der Leber übermittelt.
2. Auch während der ersten Mahlzeit nach zwölfstündigem Futterentzug stiegen sowohl die portalen Plasmaglukagonkonzentrationen als auch der 3'5'AMP-Gehalt der Leber an, während der Leberglykogengehalt abermals abfiel.
3. Glukagoninjektionen am Beginn der ersten Mahlzeit nach zwölfstündigem Futterentzug induzierten eine beschleunigte Glykogenolyse und reduzierten sowohl die Größe als auch die Dauer der Mahlzeit. Die portalen Glukagonspiegel waren unter diesen Bedingungen stark erhöht.
4. Glukagonantikörperinjektionen am Beginn der ersten Mahlzeit nach zwölfstündigem Futterentzug verzögerten den

Anstieg des hepatischen $3'5'$ AMP-Gehalts sowie die Glykogenolyse und führten zu einer deutlichen Vergrößerung und Verlängerung der Mahlzeit. Die portalen Glukagonspiegel waren unter diesen Bedingungen erniedrigt.

Somit konnte gezeigt werden, daß endogenes Glukagon am Zustandekommen der Sättigung beteiligt ist. Weiterhin kann aus den Ergebnissen geschlossen werden, daß die mahlzeitbezogene Glykogenolyse in der Leber durch den Plasma-glukagonanstieg in der Pfortader während der Mahlzeit induziert wird. Der Sättigungseffekt des Glukagons könnte auf der mahlzeitbezogenen Glykogenolyse beruhen, da es zahlreiche Hinweise auf die Existenz glukosesensitiver hepatischer "Sättigungsrezeptoren" gibt.

S U M M A R Y

The present experiments were undertaken to investigate the role of pancreatic glucagon in the control of feeding. First of all we wanted to examine, whether glucagon induces the meal-contingent glycogenolysis and whether glucagon can be considered as a "satiety hormone".

We therefore have studied the plasma glucagon concentration and the hepatic carbohydrate metabolism, including the hepatic 3'5'AMP content, as affected by spontaneous meals in ad libitum fed rats. Furthermore, the influence of glucagon and glucagon antibody injections on food intake, hepatic carbohydrate metabolism and plasma glucagon concentration was examined.

The following results were obtained:

1. Meal taking was associated with an increase in portal plasma glucagon concentration and a transient hepatic glycogenolysis. Simultaneously the hepatic 3'5'AMP level increased. (3'5'AMP mediates glucagon's effect on hepatic metabolism.)
2. Portal plasma glucagon levels and hepatic 3'5'AMP content also increased and liver glycogen content also decreased during the first meal after a 12 hour food deprivation.
3. Glucagon injections made at meal onset after 12 hour food deprivation enhanced hepatic glycogenolysis and reduced both meal length and meal size. Plasma glucagon levels were elevated under these conditions.
4. Glucagon antibody injections made at meal onset after 12 hour food deprivation depressed the increase in hepatic 3'5'AMP content and the decrease in liver glycogen content and increased both meal length and meal size. Plasma

glucagon levels were diminished under these conditions.

The results show that endogenous glucagon is involved in the production of meal ending satiety. Furthermore it is concluded from the results that meal-contingent hepatic glycogenolysis is induced by the increase in portal plasma glucagon concentration during meals. The satiating effect of glucagon could be mediated by this meal-contingent glycogenolysis, because there is evidence for the existence of hepatic glucosensitive "satiety receptors".

S C H R I F T T U M

1. Ahren, B., and I. Lundquist
Effects of glicentine on insulin secretion.
Horm. Metab. Res. 12, 582-586 (1980)
2. Altszuler, N., A. Morrison, R. Steele, and C. Bjerknes
Metabolic effects of epinephrine, dibutyryl
cyclic AMP, and glucagon infused intravenously
into normal dogs.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 185, 101-107 (1971)
3. Anand, B.K., G.S. Chhina, K.N. Sharma, S. Dua, and
B. Singh
Activity of single neurons in the hypothalamic
feeding centers: effect of glucose.
Am. J. Physiol. 207, 1146-1154 (1964)
4. Anika, S.M., T.R. Houpt, and K.A. Houpt
Cholecystokinin and satiety in pigs.
Am. J. Physiol. 240, R310-R318 (1981)
5. Antin, J., J. Gibbs, J. Holt, R.C. Young, and
G.P. Smith
Cholecystokinin elicits the complete behavioral
sequence of satiety in rats.
J. Comp. Physiol. Psychol. 89, 784-790 (1975)
6. Auffray, P.
Effects of ventromedial hypothalamic lesions
on food intake in the pig.
Annls Biol. anim. Biochim. Biophys. 9, 513 (1969)
7. Baile, C.A., W. Zinn, and J. Mayer
Feeding behaviour of monkeys: glucose utilization
rate and site of glucose entry.
Physiol. Behav. 6, 537-541 (1971)

8. Balagura, S., and M. Kanner
Hypothalamic sensitivity to 2-deoxy-D-glucose
and glucose: effects on feeding behavior.
Physiol. Behav. 7, 251-255 (1971)
9. Barling, P., and A. Beloff-Chain
Studies on the administration of glucagon
and insulin antibodies in the rat.
Horm. Metab. Res. 5, 154-159 (1973)
10. Booth, D.A.
Postabsorptively induced suppression of
appetite and the energostatic control of
feeding.
Physiol. Behav. 9, 199-202 (1972)
11. Campbell, C.S., and J.D. Davis
Licking rate of rats is reduced by intra-
duodenal and intraportal glucose infusions.
Physiol. Behav. 12, 357-365 (1974)
12. Carlson, A.J.
The control of hunger in health and disease.
University of Chicago Press, Chicago (1916)
13. Cherrington, A.D., and J.E. Liljenquist
Role of glucagon in regulating glucose
production in vivo.
In: Glucagon: Physiology, pathophysiology
and morphology of the pancreatic A-cells
(Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier,
New York, 177-193 (1981)
14. Chikamori, K., N. Nishimura, F. Suehiro, K. Sato,
H. Mori, and S. Saito
Alterations in glucagon secretion in obese
rats with hypothalamic lesions.
Horm. Metab. Res. 12, 56-59 (1980)

15. Conlon, J.M.
Molecular forms of the glucagon-like polypeptides (IRG and GLI) in tissues and plasma.
In: Glucagon: Physiology, pathophysiology and morphology of the pancreatic A-cells (Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier, New York, 55-96 (1981)
16. De Castro, J.M., S.K. Paullin, and G.M. De Lugas
Insulin and glucagon as determinants of body-weight set point and microregulation in rats.
J. Comp. Physiol. Psychol. 92, 571-579 (1978)
17. Deetz, L.E., P.J. Wangsness, J.F. Kavanaugh, and L.C. Griel jr.
Effect of intraportal and continuous intrajugular administration of insulin on feeding in sheep.
J. Nutr. 110, 1983-1991 (1980)
18. Deetz, L.E., and P.J. Wangsness
Influence of intrajugular administration of insulin, glucagon and propionate on voluntary feed intake of sheep.
J. Anim. Sci. 53, 427-433 (1981)
19. De Jong, A., J. Strubbe, and A. Steffens
Hypothalamic influence on insulin and glucagon release in the rat.
Am. J. Physiol. 233, E380-E388 (1977)
20. Della-Fera, M.A., and C.A. Baile
Cholecystokinin Octapeptide: Continuous picomole injections into the cerebral ventricles of sheep suppress feeding.
Science 206, 471-473 (1979)

21. Dobbs, R.E.
Control of glucagon secretion: Nutrients, gastroentero-pancreatic hormones, calcium, and prostaglandins

In: Glukagon: Physiology, pathophysiology and morphology of the pancreatic A-cells
(Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier, New York, 115-130 (1981)
22. Eisenstein, A.B., J. Strack, H. Gallo-Torres, A. Georgiadis, and O.N. Miller
Increased glucagon secretion in protein-fed rats: lack of relationship to plasma amino acids.
Am. J. Physiol. 236, E20-E27 (1979)
23. Exton, J.H.
Antagonism of glucagon actions by insulin.

In: Glukagon: Physiology, pathophysiology and morphology of the pancreatic A-cells
(Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier, New York, 208-210 (1981)
24. Galbo, H., and J.J. Holst
The influence of glucagon on hepatic glycogen mobilization in exercising rats.
Pflügers Arch. 363, 49-53 (1976)
25. Geary, N., W. Langhans, and E. Scharrer
Metabolic concomitants of glucagon-induced suppression of feeding in the rat.
Am. J. Physiol. 241, R330-R335 (1981)
26. Geary, N., and G.P. Smith
Pancreatic glucagon fails to inhibit sham feeding in the rat.
Peptides i. Druck (1982)
27. Geary, N., and G.P. Smith
Pancreatic glucagon and postprandial satiety in the rat.
Physiol. Behav. i. Druck (1982)

28. Gibbs, J., R.C. Young, and G.P. Smith
Cholecystokinin decreases food intake in rats.
J. Comp. Physiol. Psychol. 84, 488-495 (1973)
29. Gibbs, J., J.D. Falasco, and P.R. McHugh
Cholecystokinin decreased food intake in
rhesus monkeys.
Am. J. Physiol. 230, 15-18 (1976)
30. Gibbs, J., and C.F. Martin
Bombesin suppresses sham feeding in rats.
Soc. Neurosci. Abstr. 5, 217 (1979)
31. Grey, N., J.E. McGuigan, and D.M. Kipnis
Neutralization of endogenous glucagon by high
titer glucagon antiserum.
Endocrinology 86, 1383-1388 (1970)
32. Hetherington, A.W., and S.W. Ranson
Hypothalamic lesions and adiposity in the rat.
Anat. Rec. 78, 149-172 (1940)
33. Hoebel, B.G., and T. Teitelbaum
Weight regulation in normal and hypothalamic
hyperphagic rats.
J. Comp. Physiol. Psychol. 61, 189-193 (1966)
34. Holst, J.J.
Extrapancreatic glucagons.
Digestion 17, 168-190 (1978)
35. Holst, J.J., H. Galbo, and E.A. Richter
Neutralization of glucagon by antiserum as a
tool in glucagon physiology.
J. Clin. Invest. 62, 182-190 (1978)

36. Holst, J.J., R. Gronholt, O.B. Schaffalitzky de Muckadell, and J. Fahrenkrug
Nervous control of pancreatic endocrine secretion in pigs: I. Insulin and glucagon responses to electrical stimulation of the vagus nerves.
Acta Physiol. Scand 111, 1-7 (1981)
37. Houpt, R.T., and H.E. Hance
Stimulation of food intake in the rabbit and rat by inhibition of glucose metabolism with 2-deoxy-D-glucose.
J. Comp. Physiol. Psychol. 76, 395-400 (1971)
38. Jaspan, J.B., K.S. Polonsky, and A.H. Rubenstein
The heterogeneity of immunoreactive glucagon in plasma: Clinical implications.
In: Glucagon: Physiology, pathophysiology and morphology of the pancreatic A-cells (Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier, New York, 77-96 (1981)
39. Kaneto, A., E. Miki, and K. Kosaka
Effects of vagal stimulation on glucagon and insulin secretion.
Endocrinology 95, 1005-1010 (1974)
40. Kather, H., und B. Simon
Gastrointestinale Hormone in der Pathogenese der Fettsucht.
Dtsch. Med. Wschr. 105, 143-145 (1980)
41. Kennedy, G.C.
The role of depot fat in the hypothalamic control of food intake in the rat.
Proc. Roy. Soc. Biol. (London) 140, 578-592 (1953)
42. Koerker, D.J., W. Ruch, and E. Chideckel
Somatostatin: hypothalamic inhibitor of the endocrine pancreas.
Science 184, 482-489 (1974)

43. Langhans, W.
Glykogenolyse und Sättigung.
Diss. med. vet., Universität München (1981)
44. Langhans, W., N. Geary, and E. Scharrer
Liver glycogen content decreases during meals
in rats.
Am. J. Physiol. 1, Druck (1982)
45. Lazo, P.S., F. Barros, P. de la Pena, and S. Ramos
Ion gradients as candidates for transmembrane
signaling.
Trends Biochem. Sci. 3, 83-85 (1981))
46. Lefebvre, P.J., A.S. Luyckx, and A.H. Brassinne
Stimulation de la liberation de glucagon
gastrique par la carbamylcholine.
Ann. Endocrinol. 40, 249-250 (1979)
47. Le Magnen, J., and M. Devos
Variations of meal-to-meal liver glycogen in
rats.
Neurosci. Biobehav. Res. 4, 29-32 (1980)
48. Louis-Sylvestre, J.
Preabsorptive insulin release and hypoglycemia
in rats.
Am. J. Physiol. 230, 56-60 (1976)
49. Luyckx, A.S.
Immunoassays for glucagon.
In: Glucagon: Molecular physiology, clinical
and therapeutic implications (Eds.: P.J. Lefebvre,
and R.H. Unger), Pergamon Press, Oxford,
285-298 (1972)

50. Mackrell, D.J., and J.E. Sokal
Antagonism between the effects of insulin and glucagon in the isolated liver.
Diabetes 18, 724-732 (1969)
51. Maddison, S.
Intraperitoneal and intracranial cholecystokinin depress operant responding for food.
Physiol. Behav. 19, 819-824 (1977)
52. Martin, J.R., and D. Novin
Decreased feeding in rats following hepatic-portal infusion of glucagon.
Physiol. Behav. 19, 461-466 (1977)
53. Martin, J.R., D. Novin, and D.A. Van der Weele
Loss of glucagon suppression of feeding after vagotomy in rats.
Am. J. Physiol. 234, 314-318 (1978)
54. Mayer, J.
Glucostatic mechanism of regulation of food intake.
New. Engl. J. Med. 249, 13-16 (1953)
55. Mayer, J., and D.W. Thomas
Regulation of food intake and obesity.
Science 156, 328-337 (1967)
56. Mayer, J.
Physiology of hunger and satiety: regulation of food intake.
In: *Modern nutrition in health and disease* (Eds.: R. Goodhart, and M. Shils), Lea and Febiger, Philadelphia, 474-492 (1973)

57. Müller, W.A., C.R. Faloona, E. Aguillar-Parada, and R.H. Unger
Abnormal alpha-cell function in Diabetes.
New. Engl. J. Med. 283, 109-115 (1970)
58. Müller-Schell, W.Ph.
Nahrungszusammensetzung und Verzehrsregulation.
Diss. med. vet., Universität München (1981)
59. Niijima, A.
Afferent impulse discharge from glucoreceptors in the liver of the guinea pig.
Ann. N. Y. Acad. Sci. 157, 690-700 (1969)
60. Niijima, A.
Visceral afferents and metabolic function.
Diabetologia 20, 325-330 (1981)
61. Novin, D., D.A. Van der Weele, and M. Rezek
Infusion of 2-deoxy-D-glucose into the hepatic-portal system causes eating: evidence for peripheral glucoreceptors.
Science 181, 856-860 (1973)
62. Novin, D., J.D. Sanderson, and D.A. Van der Weele
The effect of isotonic glucose on eating as a function of feeding condition and infusion rate.
Physiol. Behav. 13, 3-7 (1974)
63. Oomura, Y.
Significance of glucose, insulin, and free fatty acid on the hypothalamic feeding and satiety neurons.
In: Hunger: Basic mechanism and clinical implications (Eds.: D. Novin, W. Wyrwicka, and G. Bray), Raven Press, New York, 145-157 (1976)

64. Palmer, J.P., and D. Porte jr.
Control of glucagon secretion: The central nervous system.
In: Glucagon: Physiology, pathophysiology and morphology of the pancreatic A-cells (Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier, New York, 135-159 (1981)
65. Parilla, R., M.N. Goodman, and C.J. Toews
Effect of glucagon : insulin ratio on hepatic metabolism.
Diabetes 23, 725-731 (1974)
66. Patton, G.S., E. Ipp, R.E. Dobbs, L. Orci, W. Vale, and R.H. Unger
Pancreatic immunoreactive somatostatin release.
Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 74, 2140-2143 (1977)
67. Penick, S.B., and G.P. Smith
The effect of glucagon on food intake and body weight in man.
J. Obesity 1, 1-5 (1964)
68. Racotta, R., and M. Russek
Food and water intake of rats after intraperitoneal and subcutaneous administration of glucose, glycerol and sodium lactate.
Physiol. Behav. 18, 267-273 (1977)
69. Reynolds, R.W., and J. Kimm
Effects of glucose on food intake in hypothalamic hyperphagic rats.
J. Comp. Physiol. Psychol. 60, 438-442 (1965)
70. Rezek, M., and D. Novin
Hepatic portal nutrient infusion: effect on feeding in intact and vagotomized rabbits.
Am. J. Physiol. 232, 119-130 (1977)

71. Richards, W.L., and R. van Potter
Scanning microdensitometry of glycogen zonation
in the livers of rats adapted to a controlled
feeding schedule and to 30, 60 or 90 % casein
diets.
Am. J. Anat. 157, 71-85 (1980)
72. Rodbell, M.
The actions of glucagon on the adenylate cyclase
system.
In: Glucagon: Physiology, pathophysiology and
morphology of the pancreatic A-cells
(Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier,
New York, 177-193 (1981)
73. Russek, M.
An hypothesis on the participation of hepatic
glucoreceptors in the control of food intake.
Nature 197, 79-80 (1963)
74. Russek, M., and P.J. Morgane
Anorexic effect of intraperitoneal glucose
in the hypothalamic hyperphagic rat.
Nature 199, 1004-1005 (1963)
75. Russek, M., A.M. Rodriguez-Zendejas, and S. Pina
Hypothetical liver receptors and the anorexia
caused by adrenaline and glucose.
Physiol. Behav. 3, 249-257 (1968)
76. Russek, M.
Demonstration of the influence of an hepatic
glucosensitive mechanism on food intake.
Physiol. Behav. 5, 1207-1209 (1970)
77. Russek, M., and E. Bruni
On the mechanism of the anorexigenic effect
of adrenaline and amphetamine.
Ser. Biol. Exp. 1, 17-24 (1970)

78. Russek, M.

Current hypotheses in the control of feeding behaviour.

In: Neural integration of physiological mechanisms and behaviour (Eds.: G.J. Mogenson, and F.R. Calaresu), University Toronto Press, Toronto, 128-147 (1975)

79. Samols, E., J. Tyler, G. Marri, and V. Marks

Stimulation of glucagon secretion by oral glucose.
Lancet 11, 1257-1259 (1965)

80. Samols, E., and J. Harrison

Intra-islet negative insulin-glucagon feedback.
Metabolism 25, 1443-1447 (1976)

81. Scharrer, E., D.W. Thomas, and J. Mayer

Absence of effect of intraaortal glucose infusions upon spontaneous meals of rats.

Pflügers Arch. 351, 315-322 (1974)

82. Schenck, v. H., B. Vasquez, and R.H. Unger

Lack of "big plasma glucagon" response during arginine stimulation of glucagon secretion.

Horm. Metab. Res. 14, 69-71 (1982)

83. Sciafani, A.

Deficits in glucose appetite and satiety produced by ventromedial hypothalamic lesions in the rat.

Physiol. Behav. 2, 771-780 (1973)

84. Seitz, H.J., W. Krone, H. Wilke, and W. Tarnowski

Rapid rise in plasma glucagon induced by acute cold exposure in man and rat.

Pflügers Arch. 389, 115-120 (1981)

85. Shimazu, T., and K. Ishikawa

Modulation by the hypothalamus of glucagon and insulin secretion in rabbits: studies with electrical and chemical stimulations.

Endocrinology 108, 605-611 (1981)

86. Smith, C.J.V.
Alterations in the food consumption of
chicken as a result of hypothalamic lesions.
Poultry Sci. 48, 475-477 (1969)
87. Stellar, E.
The physiology of motivation.
Psychol. Rev. 61, 5-22 (1954)
88. Steffens, A. B.
Plasma insulin content in relation to blood
glucose level and meal pattern in the normal
and hypothalamic hyperphagic rat.
Physiol. Behav. 5, 147-151 (1970)
89. Steffens, A.B.
The relation between the hypothalamus, the
islets of Langerhans, and the regulation of
food intake.
In: Food intake and the chemical senses (Eds.:
Y. Katsuki, M. Sato, S. Takagi, and Y. Oomura),
University Park Press, Baltimore, 367-381
(1977)
90. Stephens, D.B., and B.A. Baldwin
The lack of effect of intrajugular or intra-
portal injections of glucose or amino-acids on
food intake in pigs.
Physiol. Behav. 12, 923-929 (1974)
91. Stern, J.J., C.A. Cudillo, and J. Kruper
Ventromedial hypothalamus and short-term feeding
suppression by caerulein in male rats.
J. Comp. Physiol. Psychol. 90, 484-490 (1976)
92. Strubbe, J.H., and A.B. Steffens
Rapid insulin release after ingestion of a
meal in the unanesthetized rat.
Am. J. Physiol. 229, 1019-1022 (1975)

93. Strubbe, J.H., B. Steffens, and L. De Ruiter
Plasma insulin and the time pattern of feeding
in the rat.
Physiol. Behav. 18, 81-86 (1977)
94. Strubbe, J.H., and A.B. Steffens
Blood glucose levels in portal and peripheral
circulation and their relation to food intake
in the rat.
Physiol. Behav. 19, 303-307 (1977)
95. Unger, R.H., A. Ohneda, J. Valverde, A.M. Eisentraud,
and J. Exton
Characterization of the responses of circulating
glucagon-like immunoreactivity to intraduodenal
and intravenous administration of glucose.
J. Clin. Invest. 47, 48-66 (1968)
96. Unger, R.H., and A.M. Eisentraud
Entero-insular axis.
Arch. Intern. Med. 123, 261-266 (1969)
97. Unger, R.H., C.B. Srikant, and D. Baetens
Gastrointestinal glucagon and GLI.
In: Endocrine gut and pancreas (Ed.:
T. Fujita) Elsevier, New York, 219-224 (1976)
98. Unger, R.H., R.E. Dobbs, and L. Orci
Insulin, glucagon and somatostatin secretion
in the regulation of metabolism.
Annu. Rev. Physiol. 40, 307-343 (1978)
99. Unger, R.H., and L. Orci
Control of glucagon secretion: Within-islet
controls
In: Glucagon: Physiology, pathophysiology and
morphology of the pancreatic A-cells
(Eds.: R.H. Unger, and L. Orci), Elsevier,
New York, 161-169 (1981)

100. Van der Weele, D.A., D. Novin, M. Rezek, and J.D. Sanderson
Duodenal or hepatic-portal glucose perfusion: evidence for duodenally-based satiety.
Physiol. Behav. 12, 467-473 (1974)
101. Van der Weele, D.A., D.R. Skoog, and D. Novin
Glycogen levels and peripheral mechanisms of glucose-induced suppression of feeding.
Am. J. Physiol. 231, 1655-1659 (1976)
102. Van der Weele, D.A., P.J. Geiselman, and D. Novin
Pancreatic glucagon, food deprivation and feeding in intact and vagotomized rabbits.
Physiol. Behav. 23, 155-158 (1979)
103. Van der Weele, D.A., E. Harackiewicz, and M. DiConti
Pancreatic glucagon administration, feeding, glycemia, and liver glycogen in rats.
Brain. Res. Bull. 5, 17-21 (1980)
104. Yin, T.H., and C.T. Tasi
Effects of glucose on feeding in relation to routes of entry in rats.
J. Comp. Physiol. Psychol. 85, 258-264 (1973)
105. Yin, T.H., W.H. Tasi, F.C. Barone, and M.J. Wayner
Effects of continuous intramesenteric infusion of glucose and amino-acids on food intake in rats.
Physiol. Behav. 22, 1207-1210 (1979)

Nach Beendigung meiner Arbeit möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. Erwin Scharrer für die Überlassung des Themas und für seine jederzeit gewährte freundliche Unterstützung bedanken.

Ferner gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. Wolfgang Langhans für die zahlreichen Anregungen und die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

Diese Arbeit wurde durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

L E B E N S L A U F

01. 06. 1957 geboren in Arnsberg/Sauerland
Vater: Dr. Wilhelm Zieger
Oberstveterinär a. D.
Mutter: Maria Zieger
geb. Post
- 1963 - 1965 Melanchthon - Volksschule/Brühl
- 1965 - 1967 Volksschule/Heimerzheim b. Bonn
- 1967 - 1975 Mädchengymnasium Marienschule/Euskirchen
- 1975 Abitur
- 1975 - 1980 Studium der Tiermedizin an der Ludwig -
Maximilians - Universität München
03. 03. 1981 Approbation als Tierarzt
- seit 15. 01. 1981 Tätigkeit als wissenschaftliche Hilfs-
kraft am Institut für Physiologie,
Physiologische Chemie und Ernährungs-
physiologie der Tierärztlichen Fakultät
der LMU-München und Anfertigung der
vorliegenden Dissertation am gleichen
Institut

